

**POTENSI SENYAWA FLAVONOID DARI KAYU SECANG
(*Caesalpinia sappan* L.) DALAM MENGHAMBAT
ENZIM TIROSINASE SECARA *IN SILICO***

SKRIPSI



**Oleh:
Yulis Tirawati
NIM. 19040142**

**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
JEMBER
2023**

**POTENSI SENYAWA FLAVONOID DARI KAYU SECANG
(*Caesalpinia sappan* L.) DALAM MENGHAMBAT
ENZIM TIROSINASE SECARA *IN SILICO***

SKRIPSI

Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) Pada Program
Studi S1 Farmasi



Oleh:
Yulis Tirawati
NIM. 19040142

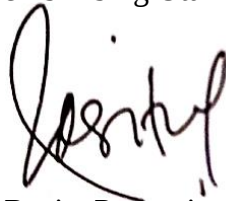
**PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS dr. SOEBANDI
JEMBER
2023**

LEMBAR PERSETUJUAN

Hasil penelitian ini telah diperiksa oleh pembimbing dan telah disetujui untuk mengikuti seminar hasil pada Program Studi Sarjana Farmasi
Universitas dr. Soebandi

Jember, 12 Mei 2023

Pembimbing Utama



Dr. apt. Ayik Rosita Puspaningtyas, M.Farm
NIDN. 0001028102

Pembimbing Anggota



Mohammad Rofik Usman, M.Si
NIDN. 0705019003

HALAMAN PENGESAHAN

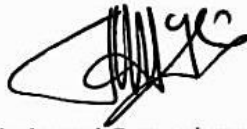
Skripsi yang berjudul *Potensi Senyawa Flavonoid Dari Kayu Secang (Caesalpinia sappan L.) Dalam Menghambat Enzim Tirosinase Secara In Silico* telah diuji dan disahkan oleh Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan pada:

Hari : Rabu

Tanggal : 24 Mei 2023

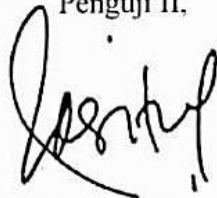
Tempat : Universitas dr. Soebandi

Tim Penguji
Ketua Penguji,



apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm
NIDN. 07030668903

Penguji II,



Dr. apt. Ayik Rosita P. M.Farm
NIDN. 0001028102

Penguji III,



Mohammad Rofik Usman, M.Si
NIDN. 0705019003

Mengesahkan,
Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan,
Universitas dr. Soebandi



apt. Lindawati Setyaningrum, M.Farm
NIDN. 07030668903

PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Yulis Tirawati
NIM : 19040142
Program Studi : Sarjana Farmasi

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri dan bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau hasil tulisan orang lain.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah karya orang lain atau ditemukan adanya pelanggaran terhadap etika keilmuan dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Jember, 12 Mei 2023

Yang menyatakan,



Yulis Tirawati
NIM. 19040142

SKRIPSI

POTENSI SENYAWA FLAVONOID DARI KAYU SECANG (*Caesalpinia sappan* L.) DALAM MENGHAMBAT ENZIM TIROSINASE SECARA *IN SILICO*

Oleh:

Yulis Tirawati
NIM. 19040142

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. apt. Ayik Rosita Puspaningtyas, M.Farm

Dosen Pembimbing Anggota : Mohammad Rofik Usman, M.Si

PERSEMBAHAN

Alhamdulillah, segala puji syukur kepada Allah SWT senantiasa dipanjatkan dan sholawat kepada Nabi Muhammad SAW sehingga penyusunan skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik dan tepat waktu. Dengan penuh rasa syukur, skripsi ini dipersembahkan untuk:

1. Kedua orangtua saya, Abah Hanafi dan Ummi Amraini yang telah memberikan dukungan terbaik dalam bentuk doa dan motivator tertinggi untuk saya dapat meraih cita-cita.
2. Kakak Yuli Suciyanti dan adik Yudis Tira Hafi yang selalu mendukung, memberikan semangat dan doa selama ini.
3. Ibu Dr. apt. Ayik Rosita Puspaningtyas, M.Farm dan Bapak Mohammad Rofik Usman, M.Si selaku dosen pembimbing yang telah banyak membimbing, memberikan arahan, dan semangat sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
4. Sahabat saya Warda Atika Silvana yang selalu menemani, memberikan semangat, motivasi, yang selalu bahu-membahu selama perkuliahan dan telah menjadi salah satu bagian penting dalam proses belajar saya hingga saat ini.
5. Teman-teman farmasi terutama kelas 19C yang selama ini memberikan semangat dan warna selama perkuliahan.

MOTTO

“Maka sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan”

~ QS. Al-Insyirah: 5 ~

“Tidak ada sukses yang cepat, karena tidak mungkin mencapai anak tangga keseratus jika tidak melalui anak tangga pertama, kedua, ketiga, dan seterusnya”

~ Jerome Polin ~

ABSTRAK

Tirawati, Yulis* Rosita Puspaningtyas, Ayik** Rofik Usman, Mohammad***. 2023. **Potensi Senyawa Flavonoid Dari Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) Dalam Menghambat Enzim Tirosinase Secara *In Silico***. Skripsi. Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi.

Latar Belakang: Tirosinase merupakan enzim utama yang mengatur proses pembentukan melanin pada kulit. Turunan senyawa flavonoid dari *Caesalpinia sappan* L. diduga memiliki potensi dalam menghambat enzim tirosinase (PDB ID: 5M8M) diantaranya yaitu brazilin, brazilein, *hematoxylin*, *caesalpiniaaphenol E* dan *3'-O-methylbrazilin*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi senyawa turunan flavonoid dari *Caesalpinia sappan* L. dalam menghambat tirosinase secara *in silico*.

Metode: Penelitian ini dilakukan secara *in silico* dengan memprediksi sifat fisika kimia senyawa yang mengacu pada hukum lipinski dan parameter *docking* menggunakan *Molegro Virtual Docker*.

Hasil Penelitian: Hasil prediksi sifat fisika kimia senyawa menunjukkan bahwa senyawa brazilin, brazilein, *hematoxylin*, *caesalpiniaaphenol E* dan *3'-O-methylbrazilin* memenuhi hukum Lipinski. Berdasarkan hasil *molecular docking* menunjukkan bahwa interaksi residu asam amino senyawa brazilin memiliki kesamaan dengan senyawa pembanding dan *native ligand* yaitu *Gly 389*, *Ser 394* dan *Asn 378*. Senyawa brazilein yaitu *Arg 321*, *Ser 394* dan *Gly 388*. Hal ini berarti bahwa keduanya diprediksi memiliki ikatan yang lebih stabil. Selain itu, nilai rata-rata *MolDock Score* senyawa brazilin sebesar -90,67802 dan brazilein sebesar -90,91938 lebih rendah daripada senyawa pembanding sebesar -88,35298 dan *native ligand* sebesar -71,65915. Hal ini berarti bahwa semakin rendah nilainya maka semakin kuat dan stabil ikatan yang terbentuk antara ligan dengan reseptor.

Kesimpulan: Berdasarkan prediksi sifat fisika kimia lima senyawa turunan flavonoid dari *Caesalpinia sappan* L. memenuhi hukum Lipinski. Hasil *molecular docking* menunjukkan bahwa senyawa brazilin dan brazilein berpotensi dalam menghambat enzim tirosinase lebih besar daripada senyawa pembanding oksiresveratrol.

Kata Kunci: Tirosinase, *Caesalpinia sappan* L., *Molecular docking*.

*Peneliti

**Pembimbing 1

***Pembimbing 2

ABSTRACT

Tirawati, Yulis* Rosita Puspaningtyas, Ayik** Rofik Usman, Mohammad***. 2023. **Potential of Flavonoid Compounds From Secang Wood (*Caesalpinia sappan* L.) In Inhibiting Tyrosinase Enzyme In Silico**. Thesis. Bachelor of Pharmacy Study Program, Univesity of dr. Soebandi.

Background: Tyrosinase is the main enzyme that regulates the process of melanin formation in the skin. Flavonoid derivatives from *Caesalpinia sappan* L. are thought to have the potential to inhibit the tyrosinase enzyme (PDB ID: 5M8M) such us brazilin, brazilein, hematoxylin, caesalпинiaphenol E and 3'-O-methylbrazilin. This study aims to determine the potential of flavonoid derivative compounds from *Caesalpinia sappan* L. in inhibiting tyrosinase in silico.

Methods: This research was conducted in silico to predict the physical properties of chemical compounds according to lipinski's law and docking parameters with Molegro Virtual Docker.

Result: The results of the physical and chemical properties showed that the brazilin, brazilein, hematoxylin, caesalпинiaphenol E and 3'-O-methylbrazilin complied with lipinski's law. Based on the results of molecular docking, it shows that the interaction of the amino acid residues of the brazilin is similar to that of the comparator compound and the native ligand namely Gly 389, Ser 394 and Asn 378. Brazilein, namely Arg 321, Ser 394 and Gly 388. This means that both are predicted to have a more stable bond. In addition, the average MolDock Score for brazilin was -90.67802 and brazilein was -90.91938 lower than the comparator compound which was -88.35298 and native ligand -71.65915. This means that the lower the value, the stronger and more stable the bond formed between the ligand and the receptor.

Conlusion:. Based on the physico-chemical properties of five compounds derived from *Caesalpinia sappan* L., the flavonoids comply with Lipinski's law. Molecular docking results showed that the potency of brazilin and brazilein in inhibiting the tyrosinase enzyme was greater than the comparator compound oxyresveratrol.

Keywords: Tyrosinase, *Caesalpinia sappan* L., Molecular docking.

*Researcher

**Advisor 1

***Advisor 2

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji dan syukur bagi Allah SWT senantiasa dipanjatkan atas nikmat, ridha dan karunia-Nya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan. Skripsi ini disusun untuk memenuhi persyaratan Gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi dengan judul “Potensi Senyawa Flavonoid Dari Kayu Secang (*Caesalpinia Sappan* L.) Dalam Menghambat Enzim Tirosinase Secara *In Silico*”.

Penulis banyak dibantu dan dibimbing berbagai pihak selama proses penyusunan skripsi ini. Maka dari itu, penulis menyampaikan terimakasih kepada:

1. Andi Eka Pranata S.ST., S.Kep.,Ns. M.Kes selaku Rektor Universitas dr. Soebandi.
2. apt. Lindawati Setyaningrum, M. Farm selaku Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi dan sebagai ketua penguji.
3. apt. Dhina Ayu Susanti, S.Farm., M.Kes selaku Ketua Program Studi Sarjana Farmasi Universitas dr. Soebandi.
4. Dr. apt. Ayik Rosita Puspaningtyas, M.Farm selaku dosen pembimbing utama.
5. Mohammad Rofik Usman, M.Si selaku dosen pembimbing anggota.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari pembaca agar memacu penulis untuk berkarya lebih baik di masa yang akan datang. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan memberikan kontribusi ilmu pengetahuan bagi semua pihak.

Jember, 12 Mei 2023

Yulis Tirawati

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
PERNYATAAN ORISIONALITAS SKRIPSI	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN SKRIPSI.....	vi
PERSEMBAHAN.....	vii
MOTTO	viii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
KATA PENGANTAR.....	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
DAFTAR SINGKATAN	xviii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.3.1 Tujuan Umum	6
1.3.2 Tujuan Khusus	6
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
1.5 Keaslian Penelitian	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Hiperpigmentasi	8
2.2 <i>Caesalpinia sappan</i> L.....	9
2.3 Oksiresveratrol	13
2.4 Reseptor Tirosinase (PDB ID: 5M8M)	14
2.5 <i>Molecular Docking</i>	15

2.6	Interaksi Reseptor dan Ligan.....	17
2.7	Hukum Lipinski.....	18
2.8	Aplikasi Penunjang.....	19
2.8.1	<i>ChemDraw</i>	19
2.8.2	<i>Molegro Virtual Docker</i> (MVD).....	20
BAB 3 KERANGKA KONSEP.....		21
3.1	Kerangka Konsep	21
3.2	Hipotesis Penelitian	22
BAB 4 METODE PENELITIAN.....		23
4.1	Desain Penelitian	23
4.2	Variabel Penelitian	23
4.2.1	Variabel Bebas	23
4.2.2	Variabel Terikat	23
4.2.3	Variabel Kontrol.....	23
4.3	Tempat Penelitian.....	24
4.4	Waktu Penelitian	24
4.5	Definisi Operasional.....	24
4.5.1	Parameter Fisika kimia.....	24
4.5.2	Parameter <i>Docking</i>	24
4.6	Alat dan Bahan Penelitian	25
4.6.1	Alat.....	25
4.6.2	Bahan.....	25
4.7	Teknik Pengumpulan Data	27
4.7.1	Skrining Senyawa	27
4.7.2	Preparasi Ligan.....	27
4.7.3	Preparasi Protein	28
4.7.4	Penambatan Ligan.....	28
4.8	Teknik Analisa Data	29
BAB 5 HASIL PENELITIAN		30
5.1	Skrining Senyawa.....	30
5.2	Preparasi ligan	30

5.3	Preparasi Protein.....	32
5.4	Penambatan Ligan	32
BAB 6	PEMBAHASAN	34
6.1	Skrining Senyawa.....	34
6.2	Preparasi Ligan.....	36
6.3	Preparasi Protein.....	37
6.4	Penambatan Ligan	40
BAB 7	KESIMPULAN DAN SARAN	48
7. 1	Kesimpulan.....	48
7. 2	Saran	49
	DAFTAR PUSTAKA	50
	LAMPIRAN.....	57

DAFTAR TABEL

Tabel 1. 1 Keaslian penelitian.....	7
Tabel 4. 1 Parameter fisika kimia	24
Tabel 4. 2 Parameter <i>docking</i>	24
Tabel 4. 3 Struktur 3D reseptor tirosinase dengan PDB ID: 5M8M.....	25
Tabel 4. 4 Struktur ligan 2D dan 3D senyawa uji	26
Tabel 4. 5 Struktur 2D dan 3D senyawa pembanding	27
Tabel 5. 1 Hasil prediksi sifat fisika kimia senyawa.....	30
Tabel 5. 2 Hasil energi minimal senyawa	31
Tabel 5. 3 Hasil nilai rata-rata <i>MolDock Score</i> senyawa uji dan pembanding	33
Tabel 5. 4 Hasil interaksi asam amino reseptor dan ligan.....	33

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Tanaman secang	9
Gambar 2. 2 Batang duri tempel bengkok (a), bunga majemuk (b), daun majemuk (c), buah polong	10
Gambar 2. 3 Struktur senyawa flavonoid	12
Gambar 2. 4 Struktur senyawa brazilein (a), brazilin (b), <i>hematoxylin</i> (c), <i>3'-O-methylbrazilin</i> (d)	13
Gambar 2. 5 Struktur senyawa oksiresveratrol	14
Gambar 2. 6 Cara kerja enzim tirosinase	15
Gambar 2. 7 Tampilan aplikasi <i>ChemDraw</i>	19
Gambar 2. 8 Tampilan aplikasi MVD	20
Gambar 5. 1 Struktur kristal tirosinase dengan <i>cavity</i> aktif dan ukurannya	32
Gambar 6. 1 Struktur kristal tirosinase	38
Gambar 6. 2 Penentuan <i>binding site</i> dan koordinat <i>scoring function</i>	39
Gambar 6. 3 Hasil interaksi asam amino antara protein 5M8M dengan senyawa brazilein (a), brazilin (b), <i>hematoxylin</i> (c), <i>3'-O-methylbrazilin</i> (d), <i>caesalpinia</i> phenol E (e), oksiresveratrol (f), <i>native ligand</i> (g)	45

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil minimalisasi energi senyawa.....	58
Lampiran 2. Nilai RMSD tirosinase.....	61
Lampiran 3. Nilai rata-rata dan standar deviasi <i>MolDock Score</i> senyawa	62
Lampiran 4. Hasil interaksi yang terjadi pada senyawa.....	76

DAFTAR SINGKATAN

2D	: 2 Dimensi
3D	: 3 Dimensi
BM	: Berat Molekul
DHICA	: <i>5,6-dyhidroksiindole-2-carboxyacid</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
HBA	: <i>Hydrogen Bond Acceptors</i>
HBD	: <i>Hydrogen Bond Donor</i>
IUPAC	: <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
L-DOPA	: <i>3,4-dihydroxyphenylalanine</i>
LogP	: Koefisien Partisi Oktanol/Air
MVD	: <i>Molegro Virtual Docker</i>
NIH	: <i>National Institutes of Health</i>
PDB	: <i>Protein Data Bank</i>
RMSD	: <i>Root Mean Square Deviation</i>
RNA	: <i>Ribonucleic acid</i>
RO5	: <i>Rule Of Five</i>
RSCB	: <i>Research Collaboratory for Structural Bioinformatics</i>
SBDD	: <i>Structure-Based Drug Design</i>
TRP-1	: <i>Tyrosinase Related Protein 1</i>
TRP-2	: <i>D-dopachrome tautomerase</i>

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kulit merupakan bagian terluar dari tubuh yang berfungsi untuk melindungi permukaan tubuh, mengatur suhu tubuh dan sebagai alat indra peraba manusia (Pearce, 2018). Penampilan kulit yang cerah dan bersih dapat memberikan pengaruh positif pada perilaku sosial masyarakat (Zhang *and* Duan, 2018). Warna kulit dapat dipengaruhi oleh jenis kulit, genetik, dan tingkat paparan sinar matahari. Paparan sinar matahari pada kulit akan menentukan jumlah dan penyebaran melanin di dalam tubuh (Qian *et al.*, 2020). Proses pembentukan melanin merupakan upaya tubuh untuk melindungi kulit dari paparan radiasi ultraviolet sinar matahari. Namun, pembentukan melanin yang berlebihan dapat menyebabkan warna kulit menjadi lebih gelap daripada keadaan normal. Hal ini dapat mengganggu estetika kulit dan menimbulkan efek buruk seperti hiperpigmentasi (Laksmiani *and* Nugraha, 2019).

Hiperpigmentasi dapat terjadi pada usia 16-65 tahun. Angka kejadian hiperpigmentasi pada kelompok usia 16-25 tahun terjadi sebesar 47,50% (Utami *and* Sari, 2016). Pada kelompok usia 25-44 tahun terjadi sebesar 59,2% kasus dan kelompok usia 45-64 tahun terjadi sebesar 40,8%. Hal ini diakibatkan karena riwayat penggunaan kosmetik, paparan sinar matahari yang terlalu sering, obat hormon dan pasca inflamasi (Setyawati *et al.*, 2019). Hiperpigmentasi dapat diatasi melalui beberapa cara, salah satunya dengan menggunakan bahan pencerah kulit (Puspaningtyas, 2013). Produk pencerah kulit telah banyak beredar di pasaran dengan berbagai bahan aktif dan cara kerja yang bermacam-macam.

Bahan pencerah kulit bekerja dengan cara menghambat produksi melanin (Nugraha *et al.*, 2018).

Enzim yang berperan dalam menghambat produksi melanin adalah enzim tirosinase. Enzim tirosinase merupakan enzim utama yang mengatur proses pembentukan melanin. Enzim ini memiliki dua aktivitas dalam mengkatalisis sintesis melanin yaitu O-hidroksilasi dari asam amino L-tirosin menjadi 3,4-*dihydroxyphenylalanine* (L-DOPA) dan oksidasi subsekuen dari L-DOPA menjadi dopakuinon (Masum *et al.*, 2019). Bahan kimia pencerah kulit yang bekerja dengan cara menghambat enzim tirosinase diantaranya hidrokuinon, mequinol, arbutin, asam azelaik, dan asam kojat (Couteau *and* Coiffard, 2016). Namun penggunaan bahan kimia tersebut dapat menimbulkan efek samping. Menurut Gajjala *et al.*, (2016) penggunaan asam kojat dan hidrokuinon pada jangka panjang serta dengan dosis besar dapat menyebabkan dermatitis kontak atau peradangan alergi akut, iritasi, ruam, dan sensasi rasa terbakar pada kulit. Disebutkan pula pada penelitian Couteau *and* Coiffard (2016) penggunaan hidrokuinon dengan konsentrasi 2%-5% dapat menyebabkan pigmentasi pasca inflamasi. Dengan demikian, perlu dilakukan pengembangan senyawa pencerah kulit yang lebih aman menggunakan bahan alam.

Salah satu bahan alam yang telah terbukti memiliki aktivitas sebagai agen pencerah kulit adalah murbei (*Morus alba* L.). Murbei diketahui memiliki kandungan flavonoid, kalkon, stilben, dan benzofuran. Turunan senyawa stilben yaitu oksiresveratrol bekerja dengan mengurangi kinerja enzim tirosinase dengan aktivitas tinggi hingga 55%. Selain itu, senyawa ini diketahui memiliki aktivitas

menghambat tirosinase 17,69 kali lebih besar dibandingkan asam kojat, sehingga oksiresveratrol pada murbei dianggap sebagai agen pencerah kulit yang aman (Gryn-Rynko *et al.*, 2022).

Bahan alam lainnya yang berpotensi sebagai agen pencerah kulit adalah kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*). Kayu secang dikenal dengan kayu merah yang memiliki kandungan kimia flavonoid, alkaloid, saponin, tannin dan terpenoid (Nomer *et al.*, 2019). Menurut Qian *et al.*, (2020) senyawa flavonoid memiliki aktivitas menghambat enzim tirosinase. Salah satu senyawa flavonoid pada kayu secang yang diuji secara *molecular docking* oleh Nugraha *et al.*, (2018) yaitu brazilein memiliki nilai energi ikatan lebih rendah daripada *native ligand*, hidrokuinon dan asam askorbat. Semakin rendah nilai energi ikatan maka semakin kuat ikatan yang terbentuk antara ligan dengan protein target. Maka dari itu, dalam penelitian tersebut dinyatakan bahwa brazilein berpotensi sebagai agen pencerah kulit.

Pada penelitian Sari, Krisnamurti *and* Bare (2022) diketahui terdapat 29 senyawa turunan flavonoid dari kayu secang. Berdasarkan struktur flavonoid yang diperoleh, terdapat empat senyawa yang memiliki struktur serupa dengan brazilein yaitu brazilin, *hematoxylin*, *caesalpinia*phenol E dan 3'-*O-methylbrazilin*. Hal ini juga didukung oleh penelitian Sari *and* Suhartati (2016) yang menyatakan bahwa brazilein, brazilin dan 3'-*O-methylbrazilin* merupakan senyawa sub tipe yang memiliki struktur aromatik dan polisiklik hampir sama. Oleh karena itu, peneliti memilih lima senyawa flavonoid yang terkandung dalam kayu secang sebagai

kandidat pencerah kulit dengan *molecular docking* menggunakan *Molegro Virtual Docker* (MVD) versi *trial*.

Molecular docking merupakan metode berbasis komputer yang mensimulasikan struktur senyawa tertentu untuk memprediksi afinitas reseptor dan ligan (Fan *et al.*, 2019). Penelitian ini menggunakan metode MVD untuk memprediksi dan memvisualisasikan kandidat obat berdasarkan interaksi protein dan ligan. Metode ini dipilih karena memiliki kualitas tinggi dan akurat sebesar 87% dalam memprediksi model ikatan protein dengan ligan (*Molegro Virtual Docker*, 2022). *Molecular docking* akan dihasilkan nilai *MolDock Score* yang menunjukkan energi total dari interaksi ligan dengan reseptor (Gondokesumo and Kurniawan, 2019).

Pada proses *docking* diperlukan struktur protein dengan kode *Protein Data Bank* (PDB). Salah satu kode enzim tirosinase adalah PDB ID: 5M8M. kode PDB ini merupakan *tyrosinase-related protein 1* dari struktur kristal protein pada manusia. Pada penelitian Adnyani *et al.*, (2019) dilakukan *molecular docking* terhadap kuersetin sebagai agen pencerah kulit dengan PDB ID: 5M8M yang dihasilkan bahwa kuersetin memiliki ikatan energi lebih rendah dibandingkan *native ligand*. Selain itu, penelitian Giantari *et al.*, (2019) juga dilakukan aktivitas agen pencerah kulit secara *molecular docking* dengan PDB ID: 5M8M dari katekin. Pada penelitian tersebut dihasilkan bahwa katekin memiliki potensi sebagai agen pencerah kulit karena memiliki energi ikatan lebih rendah dibandingkan dengan *native ligand*. Oleh Karena itu, pada penelitian ini dilakukan

pengujian senyawa turunan flavonoid pada kayu secang dengan kode PDB ID: 5M8M.

Berdasarkan uraian diatas, maka dapat dilakukan *molecular docking* untuk memprediksi lima senyawa turunan flavonoid dalam kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) yang stabil terhadap reseptor enzim tirosinase dengan PDB ID: 5M8M dan senyawa pembanding yaitu oksiresveratrol. Penelitian ini dilakukan *docking* menggunakan MVD untuk memahami bentuk interaksi dari senyawa turunan flavonoid *Caesalpinia sappan* (L.) dan memprediksi senyawa mana yang memiliki kestabilan tertinggi dalam ikatannya dengan reseptor dilihat dari nilai *MolDock score* yang kaitannya sebagai agen pencerah kulit.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah pada penelitian ini sebagai berikut:

- 1) Apakah sifat fisika kimia senyawa brazilein, brazilin, *hematoxylin*, *caesalpiniaaphenol E* dan *3'-O-methylbrazilin* pada *Caesalpinia sappan* (L.) memenuhi hukum Lipinski?
- 2) Bagaimana interaksi dan nilai *MolDock score* penambatan senyawa brazilein, brazilin, *hematoxylin*, *caesalpiniaaphenol E* dan *3'-O-methylbrazilin* pada *Caesalpinia sappan* (L.) terhadap sisi pengikatan reseptor tirosinase dibandingkan dengan *native ligand* dan senyawa pembanding?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Adapun tujuan umum dari penelitian ini untuk mengetahui potensi senyawa flavonoid yang terkandung pada *Caesalpinia sappan* (L.) dalam menghambat enzim tirosinase secara *in silico*.

1.3.2 Tujuan Khusus

Adapun tujuan khusus dari penelitian ini antara lain:

- 1) Untuk menentukan sifat fisika kimia senyawa brazilein, brazilin, *hematoxylin*, *caesalпинiaphenol E* dan *3'-O-methylbrazilin* pada *Caesalpinia sappan* (L.) memenuhi hukum Lipinski.
- 2) Untuk menganalisis adanya interaksi dan nilai *MolDock score* penambatan senyawa brazilein, brazilin, *hematoxylin*, *caesalпинiaphenol E* dan *3'-O-methylbrazilin* pada *Caesalpinia sappan* (L.) terhadap sisi pengikatan reseptor tirosinase dibandingkan dengan *native ligand* dan senyawa pembanding.

1.4 Manfaat Penelitian

Dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat berupa:

- 1) Informasi dan pengetahuan bagi kemajuan ilmu khususnya dalam bidang kesehatan.
- 2) Gambaran mengenai interaksi senyawa brazilein, brazilin, *hematoxylin*, *caesalпинiaphenol E* dan *3'-O-methylbrazilin* pada *Caesalpinia sappan* (L.) terhadap sisi pengikatan reseptor tirosinase.

- 3) Referensi, informasi dan motivasi bagi mahasiswa lain untuk melakukan penelitian selanjutnya.
- 4) Informasi kepada masyarakat mengenai potensi senyawa flavonoid yang terkandung pada *Caesalpinia sappan* (L.) dalam menghambat enzim tirosinase.

1.5 Keaslian Penelitian

Tabel 1. 1 Keaslian penelitian

Penelitian	Persamaan	Perbedaan
Meily <i>et al.</i> , 2021	1) Menggunakan metode <i>in silico</i> .	1) Penelitian sebelumnya menggunakan sampel daun tabat barito, sedangkan penelitian ini menggunakan kayu secang dalam menghambat enzim tirosinase. 2) Penelitian sebelumnya menggunakan pembanding asam kojat sedangkan penelitian ini menggunakan pembanding dari bahan alam yaitu senyawa oksiresveratrol dari murbei.
Nugraha <i>et al.</i> , 2018	1) Menggunakan sampel kayu secang. 2) Menggunakan metode <i>in silico</i>	1) Berbeda dari segi pembanding dan senyawa yang diujikan. Penelitian sebelumnya dilakukan pengujian brazilein dengan hidrokuinon dan asam askorbat terhadap enzim tirosinase. Sedangkan penelitian ini dilakukan pada brazilein, brazilin, <i>hematoxylin</i> , <i>caesalpinia</i> phenol E dan 3'-O-methylbrazilin dengan oksiresveratrol terhadap enzim tirosinase.
Pratiwi <i>et al.</i> , 2021	1) Menggunakan metode <i>in silico</i>	1) Penelitian sebelumnya menggunakan sampel kayu manis sebagai agen pencerah kulit, sedangkan pada penelitian ini menggunakan sampel kayu secang.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hiperpigmentasi

Matahari memancarkan sinar yang dapat dilihat (*visible*) dengan panjang gelombang lebih dari 400 nanometer (nm) dan sinar yang tidak dapat dilihat (ultraviolet) dengan panjang gelombang 10-400 nm (Isfardiyana *and* Safitri, 2014). Rentang waktu paparan sinar ultraviolet harian yang baik adalah berkisar 4-40 menit. Paparan sinar matahari secara langsung pada pukul 10.00-14.00 berisiko buruk dikarenakan puncak indeks ultraviolet terjadi pada waktu tersebut (Jacoeb *et al.*, 2020). Paparan sinar matahari secara langsung yang berulang dengan waktu lama dapat meningkatkan resiko terjadinya kemerahan, rasa terbakar, dan kelainan pada kulit (Isfardiyana *and* Safitri, 2014).

Kulit akan memproduksi melanin secara alami sebagai perlindungan terhadap sinar ultraviolet. Namun, produksi melanin yang berlebihan akan menyebabkan gangguan pigmentasi kulit yang disebut hiperpigmentasi. Hal ini digambarkan dengan warna kulit lebih gelap daripada keadaan normal (Laksmiani *and* Nugraha, 2019). Hiperpigmentasi banyak terjadi di negara beriklim tropis seperti Indonesia dan jarang terjadi di negara dengan musim dingin. Hiperpigmentasi paling sering terlihat pada bibir atas, pipi, dahi, hidung dan dagu. Terlihat berwarna coklat atau lebih gelap yang ditemukan secara simetris di kedua sisi wajah dan lebih terlihat jelas ketika berada dibawah sinar matahari. (Gajjala *et al.*, 2016).

2.2 *Caesalpinia sappan* L.

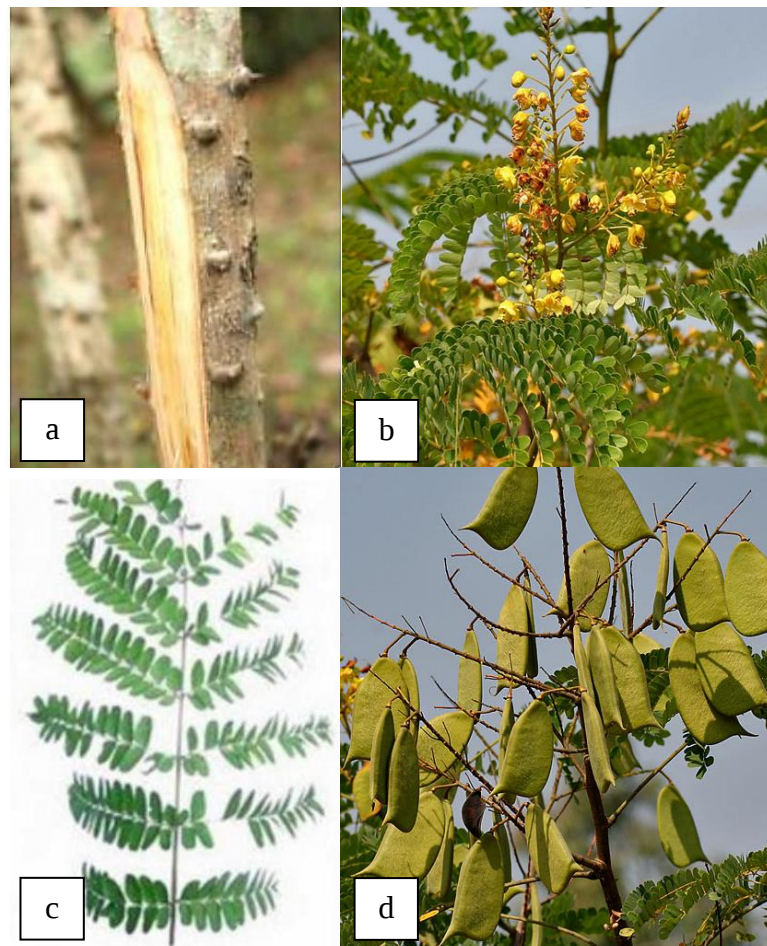
Caesalpinia sappan L. tumbuh subur dan tersebar luas di Indonesia seperti di Pulau Jawa, Aceh, Manado, Batak hingga Ternate. Tanaman ini berasal dari Brazil yang biasa dikenal dengan sebutan *brazil wood* atau kayu brazil (Sari and Suhartati, 2016). Berdasarkan Tjitrosoepomo (2013), klasifikasi tanaman secang adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
 Divisi : Spermatophyta
 Subdivisi : Angiospermae
 Kelas : Dicotyledoneae
 Ordo : Rosales
 Famili : Caesalpiniaceae
 Genus : *Caesalpinia*
 Spesies : *Caesalpinia sappan* L.



Sumber: Sari and Suhartati (2016)
 Gambar 2. 1 Tanaman secang

Tanaman secang tergolong tanaman semak atau perdu yang memiliki tinggi sekitar 5-10 meter. Tanaman ini berakar tunggang dan dapat tumbuh pada daerah tropis dengan ketinggian 500-1000 meter diatas permukaan laut. Batang tanaman bulat, berkayu, dan memiliki cabang dengan duri tempel yang berbentuk bengkok. Daun tanaman secang berbentuk menyirip ganda, bersifat majemuk dengan panjang 25-40 cm, jumlah anak daun 10-20 pasang yang berhadapan, anak daun berbentuk lonjong dan tidak bertangkai dengan panjang 10-25 mm serta lebar 3-11 mm (Sari *and* Suhartati, 2016).



Sumber: Sari *and* Suhartati (2016)

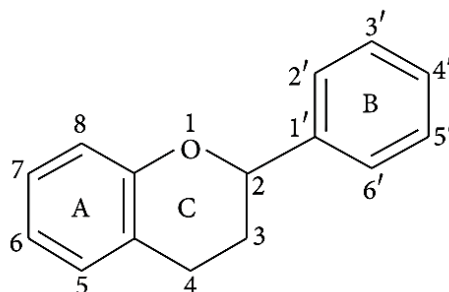
Gambar 2. 2 Batang duri tempel bengkok (a), bunga majemuk (b), daun majemuk (c), buah polong

Bunga secang tergolong majemuk, memiliki gagang dengan panjang 15-20 cm, berambut dibagian pinggir kelopak, panjang daun kelopak 10 mm dan lebar 4 mm, serta memiliki benang sari 15 mm dan putik 18 mm. Buah secang merupakan buah polong yang berbentuk pipih dan lonjong dengan panjang 8-10 cm, bagian ujungnya seperti paruh yang dapat berisi 3-4 biji. Biji berbentuk bulat memanjang, berwarna kuning kecoklatan, panjang biji 15-18 dengan ketebalan 5-7 mm (Sari *and* Suhartati, 2016).

Berdasarkan skrining fitokimia *Caesalpinia sappan* L. diketahui memiliki kandungan metabolit sekunder yaitu flavonoid, fenol dan terpenoid (Wulandari *et al.*, 2022). Penelitian Sari, Krisnamurti *and* Bare (2022) menyatakan bahwa kayu secang memiliki beragam aktivitas biologi diantaranya aktivitas antioksidan, antibakteri, antiinflamasi dan antivirus pada senyawa turunan flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa fenolik dengan struktur kimia $C_6-C_3-C_6$ yang terdiri atas cincin aromatik A, aromatik B dan cincin tengah heterosiklik yang mengandung oksigen (Alfaridz *and* Amalia, 2018). Aktivitas antioksidan oleh senyawa flavonoid bekerja dengan menyumbangkan atom hidrogennya atau dengan cara mengikat logam melalui gugus hidroksil fenolik dari cincin aromatik A, B dan cincin tengah heterosiklik (Meily *et al.*, 2021).

Flavonoid juga dapat berperan dalam menghambat pembentukan enzim tirosinase. Flavonoid bekerja dengan menempati sisi aktif enzim yang seharusnya ditempati oleh substrat. Hal ini terjadi karena flavonoid memiliki struktur yang serupa dengan L-DOPA. Setelah flavonoid menempati sisi aktif enzim, maka

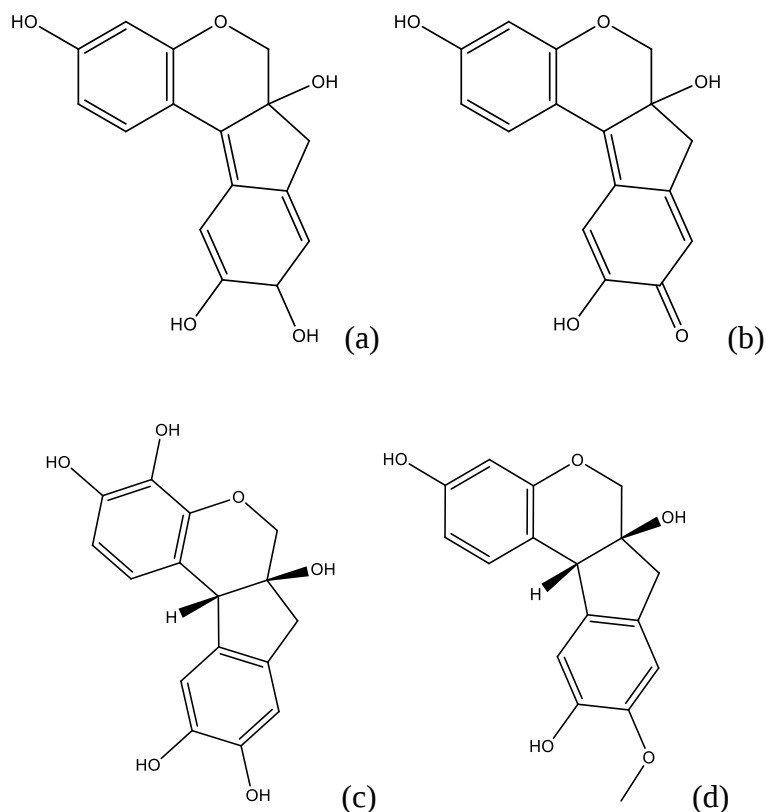
pembentukan dopakrom akan dihambat dan apabila dopakrom dihambat, maka penghambatan enzim tirosinase juga terjadi (Mustika *et al.*, 2020).



Sumber: (Kumar *and* Pandey, 2013)

Gambar 2. 3 Stuktur senyawa flavonoid

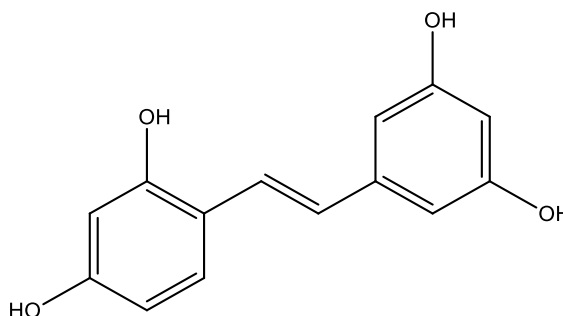
Berdasarkan penelitian Sari, Krisnamurti *and* Bare (2022) terdapat 29 senyawa turunan flavonoid yang teridentifikasi. Senyawa-senyawa tersebut antara lain brazilin, brazilein, *hematoxylin*, *3'-O-methylbrazilin*, *caesalpinaphenol E*, *sappanone A*, *sappanone B*, *protosappanin*, *caesalpin J*, *sappanchalcone*, *caesalpinaphenol A*, *caesalpinaphenol E*, *caesalpinaphenol F*, *episappanol*, *sappanol*, *3'-deoxysappanone A*, *quersetin-3,7-di-O-methylepisappanol*, *10,11-dihydroxydracaenone C*, *quersetin-3'4'-di-O-methyl ether*, *3-deoxysappanone B*, *4-O-methyl episappanol*, *2'-methoxyisoliquiritigenin*, *phanginin K*, *neosappanone A*, *protosappanin E-2*, *8-methoxybonducenllin*, *4-O-methylsappanol*, *isoliquiritigenin 2'-methyl ether*, *ombuin*, dan *gallic acid*. Kayu secang memiliki pigmen warna yang menghasilkan warna merah karena kandungan *hematoxylin* dan brazilin. Menurut Sari *and* Suhartati (2016) senyawa sub tipe yang memiliki struktur aromatik dan polisiklik hampir sama dengan brazilin adalah brazilein dan *3'-O-methylbrazilin* yang dilaporkan memiliki kemampuan aktivitas antioksidan paling baik dibandingkan dengan vitamin C dan vitamin E.



Sumber: (Sari and Suhartati, 2016)
 Gambar 2. 4 Struktur senyawa brazilein (a), brazilin (b), *hematoxylin* (c), *3'-O-methylbrazilin* (d)

2.3 Oksiresveratrol

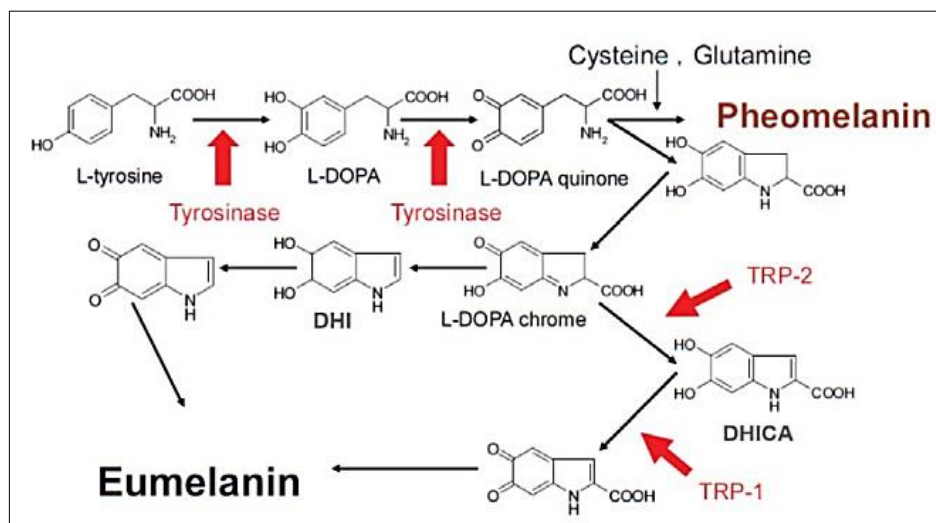
Oksiresveratrol merupakan salah satu senyawa turunan stilben dengan rumus kimia $C_{14}H_{12}O_4$. Senyawa ini memiliki berat molekul 244,24 dan terdapat dua gugus -OH pada masing-masing cincin aromatiknya (Likhitwitayawuid, 2021). Oksiresveratrol terdapat pada murbei yang memiliki aktivitas tinggi dalam menghambat tirosinase yaitu 55%. Oksiresveratrol bekerja dengan menurunkan kinerja tirosinase dan memiliki daya hambat lebih kuat pada tirosinase manusia dibandingkan murine ataupun jamur. Selain itu, oksiresveratrol juga diketahui memiliki aktivitas menghambat tirosinase 17,69 kali lebih besar dibandingkan asam kojat (Gryn-Rynko *et al.*, 2022).



Sumber: (Gryn-Rynko *et al.*, 2022)
Gambar 2. 5 Struktur senyawa oksiresveratrol

2.4 Reseptor Tirosinase (PDB ID: 5M8M)

Tirosinase merupakan enzim pengatur utama dalam produksi melanin dengan mengkatalisis proses biosintesis melanin. Gambar 2.6 menggambarkan cara kerja enzim tirosinase dalam menghambat produksi melanin yaitu dengan mengkatalis proses oksidasi asam amino L-tirosin menjadi 3,4-*dihydroxyphenylalanine* (L-DOPA) dan dioksidasi menjadi dopakuinon. Melalui proses autooksidasi, dopakuinon diubah menjadi dopakrom dan diubah lagi menjadi 5,6-*dihidroksiindole-2-carboxy acid* (DHICA) oleh enzim *D-dopachrome tautomerase* atau TRP-2. Selanjutnya, DHICA akan diubah oleh enzim *tyrosinase related protein 1* atau TRP-1 dan membentuk eumelain. Eumelanin adalah pigmen melanin berwarna cokelat yang menyebabkan warna kulit menjadi lebih gelap. Apabila enzim tirosinase dihambat, maka proses pembentukan melanin juga terhambat sehingga proses penggelapan warna kulit tidak terjadi (Pratiwi *et al.*, 2021).



Sumber: (Masum *et al.*, 2019)

Gambar 2. 6 Cara kerja enzim tirosinase

Salah satu struktur tirosinase yang dirilis oleh PDB adalah 5M8M. kode PDB ini merupakan *tyrosinase-related protein 1* dari struktur kristal protein pada manusia dengan *native ligand* asam kojat. Struktur ini memiliki resolusi tinggi sebesar 2,65 Å (RSCB, 2022). Menurut Martono *and* Martono (2012) nilai resolusi menunjukkan selektivitas dengan nilai yang baik adalah ≥ 2 Å. Protein tirosinase ini memiliki panjang sekuens 446 dan asam amino Val 196, Lys 198, Asp 212, Thr 391, His 392 yang merupakan residu inti dalam aktivitas terhadap enzim tirosinase. Pengikatan senyawa dengan residu asam amino tersebut dapat menghambat aktivitas enzim (Sharmila *et al.*, 2019).

2.5 Molecular Docking

Metode pengujian secara komputasi disebut dengan metode *in silico*. Metode ini bertujuan untuk menyelidiki dan menemukan senyawa obat baru sebelum dilakukan pengujian secara *in vitro* maupun *in vivo* (Dana *et al.*, 2020). Metode *in silico* dilakukan dengan *molecular docking* menggunakan perangkat lunak dengan kandidat senyawa obat terhadap reseptor yang terpilih (Nursamsiar

et al., 2016). *Molecular docking* merupakan salah satu jenis metode *in silico* yang digunakan dalam desain obat berbasis struktur (*Structure-Based Drug Design/ SBDD*). Metode ini dilakukan untuk menyelidiki ikatan ligan dan interaksi antar molekul yang paling stabil dengan reseptor (Ferreira *et al.*, 2015). *Molecular docking* memiliki kemampuan untuk memprediksi ikatan antar molekul dengan tingkat akurasi yang tinggi sebesar 60-75% (Martínez *et al.*, 2018). *Molecular docking* akan dihasilkan *docking score* berupa *MolDock Score*, *Rerank Score*, *H-bond* (ikatan hidrogen) dan *Root Mean Square Deviation* (RMSD). Nilai *MolDock Score* dan *Rerank Score* menggambarkan energi yang dibutuhkan untuk membentuk ikatan antara ligan dengan reseptor (Saifuddin *et al.*, 2014).

Hasil *molecular docking* dievaluasi menggunakan *MolDock Score* yang digambarkan sebagai prediksi ikatan antara ligan dengan reseptor. *MolDock Score* merupakan hasil yang menunjukkan energi total dari interaksi antara ligan eksternal (jumlah energi dari interaksi protein-ligan dan kofaktor-ligan) dan internal (jumlah energi pada struktur kimia seperti ikatan elektrostatik dan sterik). Semakin rendah nilai *MolDock Score* maka energi yang dibutuhkan untuk membentuk ikatan antara ligan dengan reseptor semakin kecil. *MolDock Score* menggambarkan keseluruhan energi antara ligan dengan reseptor yang meliputi ikatan hidrogen, interaksi sterik dan ikatan elektrostatik (Gondokesumo and Kurniawan, 2019). Sementara itu, *Rerank Score* merupakan energi ikatan antara ligan dengan reseptor dan mencari konformasi ligan yang tepat dengan melihat nilai terendah untuk memprediksi afinitas yang lebih baik (Nabilah, 2022). RMSD merupakan jarak ikatan antara *native ligand* dengan protein setelah dilakukan

docking (Rastini *et al.*, 2019). Nilai RMSD yang baik adalah $\leq 2\text{\AA}$ (Martínez *et al.*, 2018).

Sumber data yang digunakan dalam memperoleh data ligan didapatkan dari situs *PubChem* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dan *Protein Data Bank* (PDB) (<https://www.rcsb.org/>). *PubChem* merupakan pusat informasi *database* yang berisi tentang zat kimia dan aktivitas biologisnya. Diresmikan sejak tahun 2004 sebagai komponen dari *the Molecular Libraries Roadmap Initiatives* dari *National Institutes of Health* (NIH) dan dikembangkan menjadi pusat informasi di bidang kimia-biologi (Kim *et al.*, 2016). Sementara itu, PDB merupakan situs penyedia data struktur tiga dimensi makromolekul biologis seperti *database* gen dan obat terkait asam nukleat, protein dan struktur yang kompleks. Situs PDB dikelola oleh *Research Collaboratory for Structural Bioinformatics* (RSCB) yang dimanfaatkan untuk mengakses data reseptor untuk proses penambatan molekuler (Rose *et al.*, 2015).

2.6 Interaksi Reseptor dan Ligan

Tipe ikatan kimia yang berperan pada interaksi reseptor dengan ligan antara lain ikatan hidrogen, interaksi sterik, dan interaksi elektrostatik (Muchtaridi *et al.*, 2018).

1) Ikatan Hidrogen

Ikatan hidrogen merupakan ikatan antara hidrogen (atom H) muatan positif dengan atom bersifat elektronegatif (X) dan memiliki sepasang elektron bebas dengan oktet yang lengkap seperti F, N, dan O (Siswandono, 2016).

2) Interaksi Sterik

Interaksi sterik (*van der Waal's*) merupakan interaksi yang menunjukkan adanya tarik menarik antara satu atom dengan yang lainnya. Hal ini dinyatakan dengan adanya hubungan struktur dan aktivitas yang menunjukkan apabila interaksi gugus semakin besar, maka potensi senyawa akan menurun (Muchtaridi *et al.*, 2018).

3) Interaksi Elektrostatik

Interaksi elektrostatik merupakan interaksi antar atom yang disebabkan oleh perbedaan kepolarannya. Ikatan ini berkontribusi besar dalam pembentukan konformasi protein yang stabil karena jumlahnya banyak (Arwansyah and Hasrianti, 2014).

2.7 Hukum Lipinski

Parameter fisika kimia merupakan indikator penting dalam penentuan potensi senyawa baru. Parameter ini dapat dianalisis berdasarkan Hukum Lipinski atau *Rule of Five* (RO5). Hukum Lipinski digunakan sebagai evaluasi senyawa obat baru dengan cara pemberian secara oral. Hukum Lipinski didefinisikan dengan empat parameter yang meliputi berat molekul (BM) senyawa ≤ 500 Da, logaritma koefisien partisi oktanol/air ($\log P$) ≤ 5 , *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA) ≤ 10 dan *Hydrogen Bond Donors* (HBD) ≤ 5 (Lipinski, 2004).

Berat molekul senyawa berkaitan dengan senyawa untuk menembus membran. Apabila berat molekul lebih dari 500 Da, maka akan sulit menembus membran sel dan sulit terdifusi. Nilai $\log P$ merupakan ukuran lipofilitas senyawa dalam lemak atau air. Apabila nilai $\log P$ semakin tinggi maka senyawa obat

tersebut semakin hidrofobik yang dapat menyebabkan toksisitas dalam tubuh karena terdistribusi lebih luas dan mengakibatkan tertahan terlalu lama pada lipid bilayer. Sebaliknya, apabila nilai logP semakin rendah maka senyawa obat tersebut sulit sekali melewati membran lipid bilayer. Nilai logP yang baik berkisar antara -2 sampai +6,5 (Hardjono, 2016). *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA) ≤ 10 dan *Hydrogen Bond Donors* (HBD) ≤ 5 diartikan bahwa energi yang diperlukan berbanding lurus dengan banyaknya ikatan hidrogen dalam proses absorpsi. Semakin rendah jumlah ikatan hidrogen maka energi yang dibutuhkan semakin kecil untuk terjadinya absorpsi, begitupula sebaliknya (Maftucha *et al.*, 2022).

2.8 Aplikasi Penunjang

2.8.1 ChemDraw

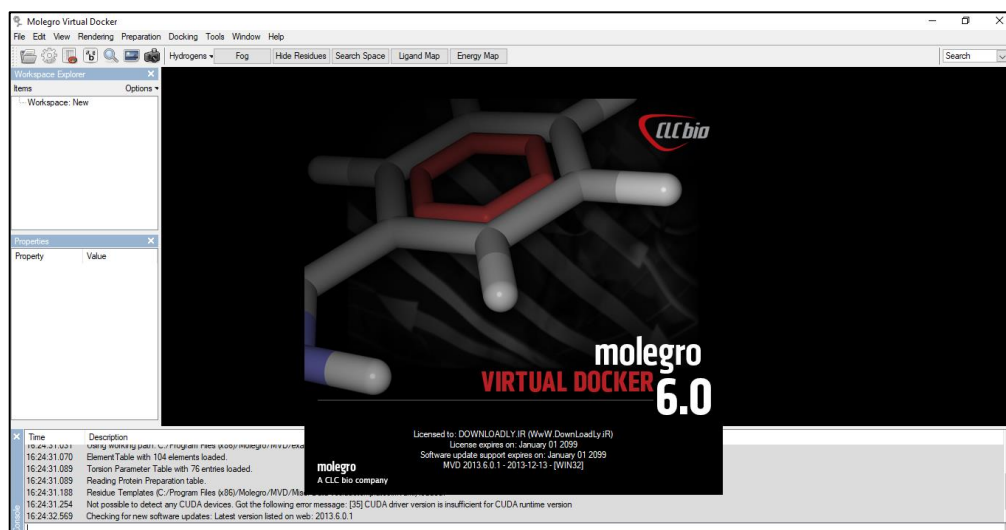


Gambar 2. 7 Tampilan aplikasi ChemDraw

ChemDraw merupakan salah satu program aplikasi *ChemOffice* dari perusahaan besar bidang kimia Perkin Elmer dan *Cambridge Software*. Aplikasi memiliki beragam fitur untuk menggambar struktur 2 dimensi (2D) dan 3 dimensi (3D) molekul di bidang kimia utamanya kimia organik, biokimia, polimer dan biopolimer (termasuk asam amino, peptida, sekuens *ribonucleic acid*/RNA dan

deoxyribonucleic acid/DNA). Aplikasi ini memiliki berbagai fungsi antara lain dapat membuat nama dan struktur senyawa, menghitung rumus molekul dan berat molekul, serta mendapatkan nama *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC) dari struktur secara akurat (ParkinElmer, 2022).

2.8.2 Molegro Virtual Docker (MVD)

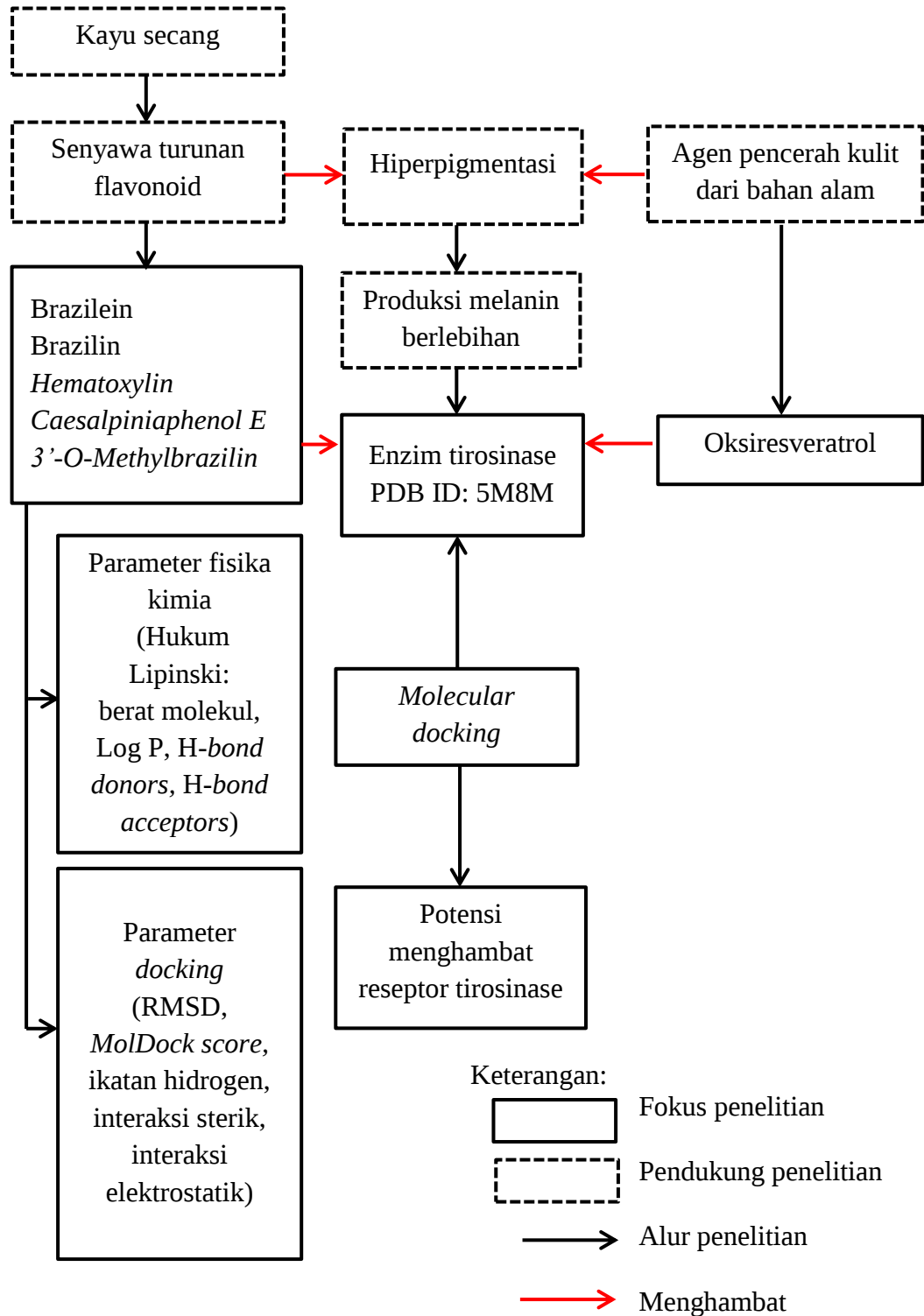


Gambar 2. 8 Tampilan aplikasi MVD

Molegro Virtual Docker (MVD) merupakan salah satu aplikasi untuk memprediksi interaksi protein dan ligan. Dalam hal ini dilakukan proses *docking* mulai dari persiapan molekul hingga penentuan situs pengikatan potensial dari protein target serta prediksi mode pengikatan ligan. MVD merupakan salah satu aplikasi metode komputasi yang menjadi bagian dari desain obat baru. MVD dapat memprediksi dan memvisualisasikan kandidat obat berdasarkan interaksi protein dan ligan dengan kualitas tinggi dan akurat sebesar 87% lebih unggul daripada aplikasi lainnya (*Molegro Virtual Docker*, 2022).

BAB 3 KERANGKA KONSEP

3.1 Kerangka Konsep



3.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dari penelitian ini adalah lima senyawa flavonoid pada tanaman secang yaitu brazilein, brazilin, *hematoxylin*, *caesalpinia*phenol *E*, dan 3'-*O-methylbrazilin* memiliki ikatan lebih baik terhadap senyawa pembanding oksiresveratrol dalam menghambat enzim tirosinase berdasarkan parameter fisika kimia dan parameter *docking*.

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Desain penelitian ini merupakan penelitian pre eksperimental berbasis komputer yang dilakukan secara *in silico* dari lima senyawa turunan flavonoid pada kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) yaitu brazilein, brazilin, *hematoxylin*, *caesalpinia*phenol *E* dan 3'-*O*-methylbrazilin terhadap reseptor tirosinase dengan kode PDB ID: 5M8M menggunakan metode *molecular docking*.

4.2 Variabel Penelitian

4.2.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah lima senyawa turunan flavonoid pada kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) yaitu brazilein, brazilin, *hematoxylin*, *caesalpinia*phenol *E* dan 3'-*O*-methylbrazilin.

4.2.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah berat molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktanol/air (Log P), *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), *Hydrogen Bond Donor* (HBD), nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD), *MolDock score*, ikatan hidrogen, interaksi sterik, dan interaksi elektrostatis.

4.2.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol pada penelitian ini adalah aplikasi *ChemDraw Ultra trial* versi 12.0, *Chem3D trial* versi 12.0, *Molegro Virtual Docker* (MVD) versi *trial* dan reseptor tirosinase dengan kode PDB ID: 5M8M.

4.3 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Gedung Program Studi Sarjana Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas dr. Soebandi.

4.4 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan februari sampai mei.

4.5 Definisi Operasional

4.5.1 Parameter Fisika kimia

Tabel 4. 1 Parameter fisika kimia

No.	Parameter	Keterangan	Rentang
1.	Berat molekul (BM)	Berat molekul senyawa yang dapat menembus membran. Apabila >500 Da, molekul akan sulit menembus membran sel (Maftucha <i>et al.</i> , 2022).	≤ 500 Da (Lipinski, 2004)
2.	Log P	Logaritma koefisien partisi oktanol/air.	≤ 5 (Lipinski, 2004)
3.	<i>Hydrogen Bond Acceptors</i> (HBA)	Ikatan hidrogen (H) akseptor	≤ 10 (Lipinski, 2004)
4.	<i>Hydrogen Bond Donors</i> (HBD)	Ikatan hidrogen (H) donor	≤ 5 (Lipinski, 2004)

4.5.2 Parameter Docking

Tabel 4. 2 Parameter docking

No.	Parameter	Keterangan
1.	<i>Root Mean Square Deviation</i> (RMSD)	Jarak ikatan antara <i>native ligand</i> dengan protein setelah dilakukan <i>docking</i> (Rastini <i>et al.</i> , 2019). Nilai RMSD yang baik adalah $\leq 2\text{\AA}$ (Martínez <i>et al.</i> , 2018).
2.	<i>MolDock score</i>	Nilai energi ikatan dalam satuan Kkal/mol. Semakin rendah nilai energi ikatan, semakin kuat ikatan antara ligan dengan protein target (Nugraha <i>et al.</i> , 2018).
3.	Ikatan hidrogen	Ikatan yang terjadi karena adanya interaksi atom hidrogen yang terikat secara kovalen dengan atom elektronegatif seperti flour (F), nitrogen (N), oksigen (O) (Arwansyah <i>et al.</i> , 2014).
4.	Interaksi sterik	Interaksi yang menunjukkan adanya tarik menarik antara satu atom dengan yang lainnya (Muchtaridi <i>et al.</i> , 2018).
5.	Interaksi elektrostatik	Interaksi antara atom yang disebabkan oleh perbedaan kepolaran (Arwansyah <i>et al.</i> , 2014).

4.6 Alat dan Bahan Penelitian

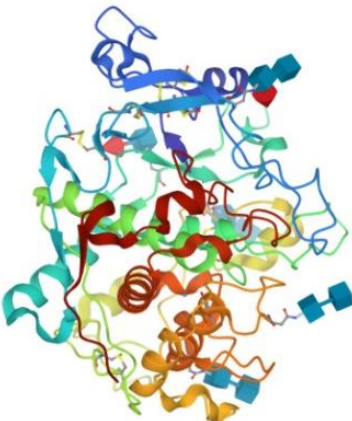
4.6.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah perangkat keras dan perangkat lunak. Perangkat keras yang digunakan adalah *Notebook* Asus X441N dengan spesifikasi RAM 4 GB, *windows* 10, *processor Intel(R) Celeron(R) CPU N3350 Up to 1.10 GHz*. Sedangkan perangkat lunak yang digunakan adalah *ChemDraw Ultra trial* versi 12.0, *Chem3D trial* versi 12.0, *Molegro Virtual Docker (MVD)* versi *trial*, situs *PubChem* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dan *Protein Data Bank (PDB)* (<https://www.rcsb.org/>).

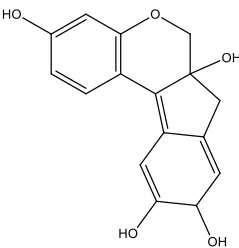
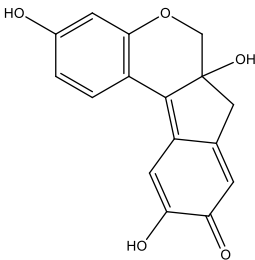
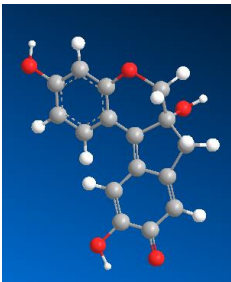
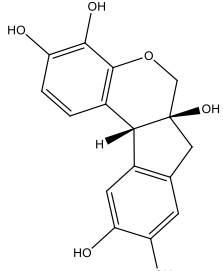
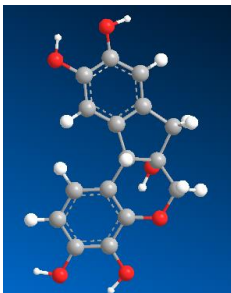
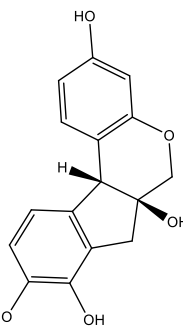
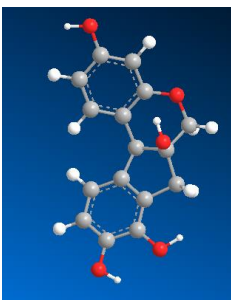
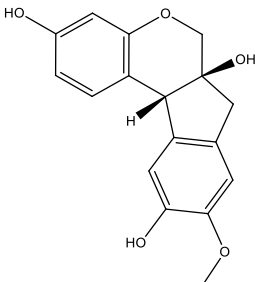
4.6.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah reseptor tirosinase dengan PDB ID: 5M8M, oksiresveratrol sebagai pembanding dan senyawa turunan flavonoid pada kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) yaitu brazilin, brazilin, *hematoxylin*, *caesalpinia*phenol *E* dan *3'-O-methylbrazilin* dengan struktur 2 dimensi (2D) dan 3 dimensi (3D).

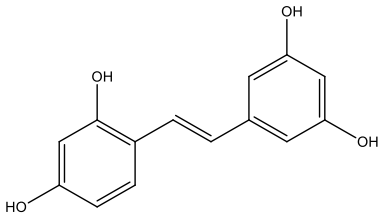
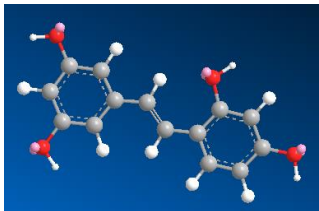
Tabel 4. 3 Struktur 3D reseptor tirosinase dengan PDB ID: 5M8M

Kode Reseptor	Struktur 3D Reseptor
Tirosinase PDB ID: 5M8M	

Tabel 4. 4 Struktur ligan 2D dan 3D senyawa uji

Ligan / Senyawa	Struktur 2D	Struktur 3D
Brazilin		
Brazilein		
Hematoxylin		
Caesalpinaphenol E		
3'-O-methylbrazilin		

Tabel 4. 5 Struktur 2D dan 3D senyawa pembanding

Ligan / Senyawa	Struktur 2D	Struktur 3D
Oksiresveratrol		

4.7 Teknik Pengumpulan Data

4.7.1 Skrining Senyawa

Langkah awal dilakukan skrining senyawa dengan mencari nama *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC) dari senyawa brazilein, brazilin, *hematoxylin*, *caesalpinaphenol E*, *3'-O-methylbrazilin* dan oksiresveratrol pada situs *PubChem* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Kemudian menggambar struktur 2D pada senyawa brazilein, brazilin, *hematoxylin*, *caesalpinaphenol E*, *3'-O-methylbrazilin*, dan oksiresveratrol menggunakan aplikasi *ChemDraw Ultra trial* versi 12.0. Untuk menampilkan parameter fisika kimia senyawa dilakukan dengan klik menu *view* dan *show chemical properties window* (Amanda, 2021).

4.7.2 Preparasi Ligan

Struktur 2D yang telah dilakukan skrining, dikonversi ke dalam struktur 3D menggunakan aplikasi *Chem3D trial* versi 12.0. Langkah selanjutnya dilakukan minimalisasi energi pada setiap struktur senyawa dengan cara klik *calculations*, *MM2*, *minimize energy*, kemudian klik *run*. Selanjutnya struktur pada tiap senyawa tersebut disimpan dengan format SYBYL2 (*.mol2) (Hariz, 2019).

4.7.3 Preparasi Protein

Langkah awal pada proses ini adalah dengan mengunduh protein tirosinase PDB ID: 5M8M melalui situs website (<https://www.rcsb.org/structure/5M8M>) dengan file PDB format. Selanjutnya dilakukan proses *docking* menggunakan MVD dengan cara klik file, *import molecules*, pilih PDB format yang telah diunduh dan klik *open*, akan muncul tampilan 3D struktur protein. Hilangkan rantai molekul, *native ligand* dan residu yang tidak diperlukan dengan tidak klik centang pada *water* kemudian *import*. Kemudian dilakukan prediksi tempat ikatan *native ligand* dengan cara klik *preparation*, *detect cavities* dan klik ok. Dipilih ligan aktif dengan cara klik kanan ligan dan pilih *set as active ligand*. Setelah itu dilakukan proses *docking* dengan cara klik menu *docking wizard*, pilih ligan yang sesuai sebagai *reference ligand*, klik *next*, pada *binding site: origin* pilih *cavity* yang sesuai dan klik *next* dan simpan dengan format *file mvdresult*. Lalu klik *start* dan proses *run* akan berjalan yang berakhir dengan tampilan nilai RMSD (Nabilah, 2022).

4.7.4 Penambatan Ligan

Senyawa ligan format SYBYL2 (*.mol2) dilakukan penambatan molekul dengan cara ditambahkan pada *Molegro Virtual Docker*. Klik menu *file*, *import molecules*, pilih senyawa yang telah dilakukan *minimize energy* dan klik *open*. Kemudian dilakukan proses pengikatan terhadap protein dan *cavity* yang telah sesuai dengan cara klik kanan pada senyawa lalu klik *align to this molecule*. Selanjutnya dilakukan *docking* dengan cara klik *docking wizard*, pilih ligan pada *reference ligand*, klik *next*, pada *binding site: origin* pilih *cavity* yang sesuai dan

klik *next* dan simpan dengan format *file mvdresult*. Lalu klik *start* dan proses *run* akan berjalan kemudian akan berakhir dengan tampilan *parameter docking*. Pada penelitian ini dilakukan *run* sebanyak 50 kali. Langkah terakhir dilakukan penambatan dengan cara klik *import docking result*, masukkan *file mvdresult* yang telah di simpan, dan analisis interaksi yang terjadi. Untuk mengukur kekuatan ikatan senyawa dengan reseptor, parameter yang digunakan adalah nilai *MolDock score* (Nabilah, 2022).

4.8 Teknik Analisa Data

Analisis data pada penelitian ini dilakukan berdasarkan hasil uji parameter fisika kimia dan parameter *docking* terhadap senyawa brazilein, brazilin, *hematoxylin*, *caesalpiniaphenol E* dan *3'-O-methylbrazilin*. Pada parameter fisika kimia dianalisis dengan terpenuhinya Hukum Lipinski antara lain berat molekul ≤ 500 Da, $\text{Log P} \leq 5$, *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA) ≤ 10 dan *Hydrogen Bond Donor* (HBD) ≤ 5 . Sedangkan parameter *docking* dianalisis dengan nilai RMSD yaitu $< 2 \text{ \AA}$, *MolDock score*, interaksi hidrogen, interaksi sterik dan interaksi elektrostatik. Hasil akan disajikan dalam bentuk tabel dan dianalisa secara deskriptif untuk mengetahui nilai afinitas dari senyawa yang di uji dengan senyawa pembanding (Ayuningrum, 2021).

BAB 5 HASIL PENELITIAN

5.1 Skrining Senyawa

Skrining senyawa berdasarkan parameter fisika kimia ditujukan untuk memprediksi senyawa yang diyakini memiliki potensi obat dan harus memenuhi persyaratan yaitu hukum Lipinski (Maftucha *et al.*, 2022). Hukum Lipinski didefinisikan dengan empat parameter yang meliputi BM senyawa ≤ 500 Da, logP ≤ 5 , HBA ≤ 10 dan HBD ≤ 5 (Lipinski, 2004). Hasil prediksi sifat fisika kimia senyawa disajikan dalam tabel 5.1.

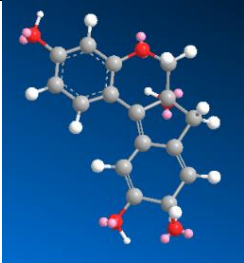
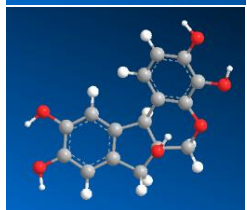
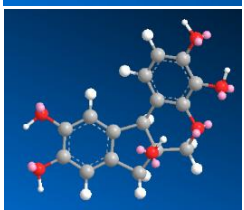
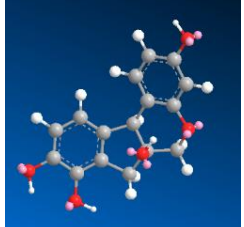
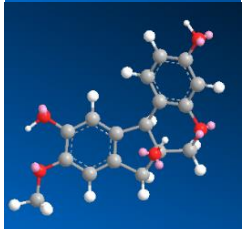
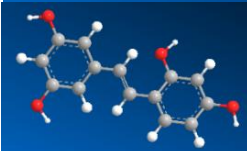
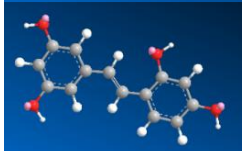
Tabel 5. 1 Hasil prediksi sifat fisika kimia senyawa

Nama senyawa	BM	LogP	HBA	HBD
Brazilin	286,28	-1,08	5	4
Brazilein	284,26	-1,09	5	3
Hematoxylin	302,28	1,24	6	5
Caesalpiniaphenol E	286,28	1,68	5	4
3'-O-Methylbrazilin	300,30	1,89	5	3
Senyawa pembanding oksiresveratrol	244,24	2,67	4	4
Native ligand (asam kojat)	142,11	-2,45	4	2

5.2 Preparasi ligan

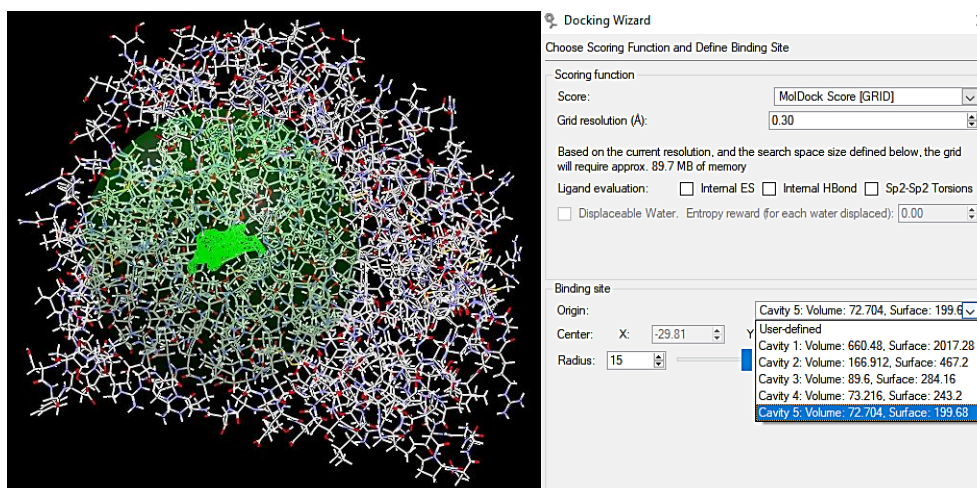
Preparasi ligan dari senyawa yang akan diuji merupakan langkah awal dalam proses *docking*. Preparasi ligan dilakukan mengkonversi struktur 2D senyawa ke 3D. Selanjutnya dilakukan minimalisasi energi pada struktur 3D senyawa. Hasil tersebut dapat dilihat pada tabel 5.2.

Tabel 5. 2 Hasil energi minimal senyawa

Nama Senyawa	Struktur 3D Sebelum Minimalisasi Energi	Struktur 3D Setelah Minimalisasi Energi	Energi Minimal (Kkal/mol)
Brazilin			10,7623
Brazilein			14,5871
Hematoxylin			-1,4588
Caesalpinia phenol E			5,5065
3'-O-Methylbrazilin			14,3277
Senyawa pembanding oksiresveratrol			-0,4006

5.3 Preparasi Protein

Preparasi protein dilakukan menggunakan protein tirosinase dengan kode PDB 5M8M. Protein ini memiliki *native ligand* asam kojat dengan resolusi sebesar 2,65 Å. Preparasi protein ditujukan untuk menentukan *cavity* sebagai tempat ikatan sisi aktif protein dan ligan (Pratoko, 2012). Berdasarkan hasil penelitian, didapatkan bahwa *cavity* 5 merupakan *cavity* aktif dengan volume 72,704 dan luas permukaan (*survace*) 199,68 yang dapat dilihat pada gambar 5.1. Langkah berikutnya dilakukan proses *docking* dan menghasilkan nilai RMSD sebesar 2,10299 Å yang dapat dilihat pada lampiran 2.



Gambar 5. 1 Struktur kristal tirosinase dengan *cavity* aktif dan ukurannya

5.4 Penambatan Ligan

Penambatan ligan pada senyawa uji dan senyawa pembanding dilakukan pada MVD dan menghasilkan parameter *docking* yaitu nilai *MolDock Score* dan interaksi antara ligan dengan reseptor. Proses *docking* dilakukan dengan replikasi sebanyak 50 kali. Hasil rata-rata dari nilai *MolDock Score* pada senyawa uji dan pembanding disajikan dalam tabel 5.3 sedangkan interaksi asam amino protein

tirosinase dengan ligan disajikan dalam tabel 5.4. Hasil lengkap replikasi *docking* sebanyak 50 kali dapat dilihat pada lampiran 3.

Tabel 5. 3 Hasil nilai rata-rata *MolDock Score* senyawa uji dan pembanding

No	Senyawa	<i>MolDock Score</i> ± Standar Deviasi
1	Brazilin	-90,67802 ± 0,11776
2	Brazilein	-90,91938 ± 0,00980
3	<i>Hematoxylin</i>	-80,71208 ± 1,23285
4	<i>Caesalpinia</i> phenol E	-81,21509 ± 0,54001
5	3'-O-methylbrazilin	-84,18347 ± 0,71225
6	Senyawa pembanding oksiresveratrol	-88,35298 ± 0,08129
7	<i>Native ligand</i> (asam kojat)	-71,65915 ± 0,38910

Tabel 5. 4 Hasil interaksi asam amino reseptor dan ligan

No	Senyawa	Ikatan Hidrogen	Interaksi Sterik
1	Brazilin	O(8) - Tyr 362 O(8) - Gly 389 O(8) - Ser 394	C(6) - Asn 378 O(8) - His 381 O(8) - His 192
2	Brazilein	O(8) - Arg 321 O(8) - Tyr 362 O(8) - Gly 388	O(8) - Ser 394 C(6) - Leu 382 C(6) - Arg 374 C(6) - Tyr 362
3	<i>Hematoxylin</i>	O(8) - Arg 374 O(8) - Tyr 362 O(8) - Thr 391 O(8) - Gly 388 O(8) - His 192	C(6) - Leu 382 O(8) - His 192 C(6) - Tyr 362
4	<i>Caesalpinia</i> phenol E	O(8) - Arg 321 O(8) - Arg 374 O(8) - Ser 394	C(6) - Leu 382 C(6) - Asn 378 O(8) - His 215
5	3'-O-methylbrazilin	O(8) - Gly 388 O(8) - Ser 394 O(8) - Arg 374	C(6) - Asn 378 C(6) - His 192 C(6) - Leu 382 O(8) - Gly 389 O(8) - Gln 390 O(8) - His 377
6	Senyawa pembanding oksiresveratrol	O(8) - Arg 321 O(8) - Gly 389 O(8) - Ser 394 O(8) - Asn 378	
7	<i>Native ligand</i> (asam kojat)	O(8) - Gly 388 O(8) - Ser 394	O(8) - Gly 389 O(8) - Gln 390 O(8) - Thr 391

BAB 6 PEMBAHASAN

6.1 Skrining Senyawa

Skrining senyawa berdasarkan sifat fisika kimia dianalisis dengan hukum Lipinski atau dikenal sebagai *Rule Of Five* (RO5). Sifat fisika kimia suatu senyawa berkaitan dengan proses absorpsi senyawa saat melewati membran sel di dalam tubuh (Amanda, 2021). Hukum Lipinski didefinisikan dengan empat parameter yang meliputi BM senyawa ≤ 500 Da, $\log P \leq 5$, HBA ≤ 10 dan HBD ≤ 5 (Lipinski, 2004). Skrining senyawa berdasarkan parameter fisika kimia ditujukan untuk memprediksi senyawa yang diyakini memiliki potensi obat dan harus memenuhi persyaratan yaitu hukum Lipinski (Maftucha *et al.*, 2022).

Prediksi sifat fisika kimia senyawa dilakukan dengan mencari nama IUPAC dari senyawa yang akan diuji yaitu *brazilein*, *brazilin*, *hematoxylin*, *caesalpinaphenol E*, *3'-O-methylbrazilin* dan senyawa pembanding oksiresveratrol. Hal ini dilakukan karena prediksi sifat fisika kimia memerlukan nama IUPAC pada situs resmi *PubChem* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Langkah selanjutnya dilakukan penggambaran struktur 2D senyawa pada aplikasi *ChemDraw Ultra trial* versi 12.0 kemudian klik menu *view* lalu *show chemical properties window* dan didapatkan parameter berupa BM, $\log P$, HBA dan HBD dari setiap senyawa. Hasil prediksi sifat fisika kimia senyawa uji disajikan dalam tabel 5.1.

Nilai berat molekul senyawa berkaitan dengan proses distribusi obat yang terjadi dengan jalan menembus membran. Senyawa dengan berat molekul lebih dari 500 Da merupakan molekul yang besar sehingga akan sulit menembus

membran pada saat proses difusi. Sebaliknya, senyawa yang memiliki berat molekul kurang dari 500 Da merupakan molekul yang lebih kecil sehingga akan memudahkan senyawa untuk menembus membran saat proses difusi (Maftucha *et al.*, 2022). Berdasarkan hasil yang diperoleh, lima senyawa turunan flavonoid dari *Caesalpinia sappan* L. dan senyawa pembanding oksiresveratrol memiliki nilai berat molekul kurang dari 500 Da.

Nilai logP merupakan ukuran lipofilitas atau kemampuan senyawa dapat larut dalam lemak atau air. Nilai logP yang baik berkisar antara -2 sampai +6,5 (Hardjono, 2016). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa nilai logP senyawa brazilin sebesar -1,08 dan brazilein sebesar -1,09. Menurut Widiyanti *et al.*, (2021), senyawa yang memiliki nilai logP negatif cenderung lebih larut dalam keadaan polar (air). Hal ini diartikan bahwa senyawa tersebut hanya dapat larut dalam cairan tubuh saja dan sulit menembus membran biologis (Isnaeni *et al.*, 2016). Selain itu, didapatkan pula nilai logP pada senyawa *3'-O-methylbrazilin* sebesar 1,89, *caesalpiniphenol E* sebesar 1,68, *hematoxylin* sebesar 1,24 dan senyawa pembanding oksiresveratrol sebesar 2,67. Semakin tinggi nilai logP maka semakin hidrofobik senyawa dan dapat menyebabkan toksisitas dalam tubuh karena terdistribusi lebih luas dan bertahan lebih lama pada lipid bilayer. Sebaliknya, apabila nilai logP semakin rendah maka senyawa tersebut sulit sekali melewati membran lipid bilayer (Maftucha *et al.*, 2022).

Hydrogen Bond Acceptors (HBA) dan *Hydrogen Bond Donors* (HBD) merupakan energi yang dibutuhkan senyawa pada aktivitas biologis berbanding lurus dengan banyaknya ikatan hidrogen dalam proses absorpsi. Semakin rendah

jumlah ikatan hidrogen maka energi yang dibutuhkan semakin kecil untuk terjadinya absorpsi, begitupula sebaliknya (Maftucha *et al.*, 2022). Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai HBD terendah yaitu *brazilein* dan *3'-O-methylbrazilin* senilai 3 dan nilai HBD tertinggi yaitu *hematoxylin* senilai 5. Hasil HBA didapatkan bahwa empat senyawa yaitu *brazilin*, *brazilein*, *caesalpiniaphenol E*, *3'-O-methylbrazilin* memiliki nilai yang sama sebesar 5 dan pada *hematoxylin* sebesar 6. Berdasarkan hasil yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa lima senyawa turunan flavonoid pada *Caesalpinia sappan* L. yaitu *brazilin*, *brazilein*, *hematoxylin*, *3'-O-methylbrazilin* dan *caesalpiniaphenol E* memenuhi hukum Lipinski.

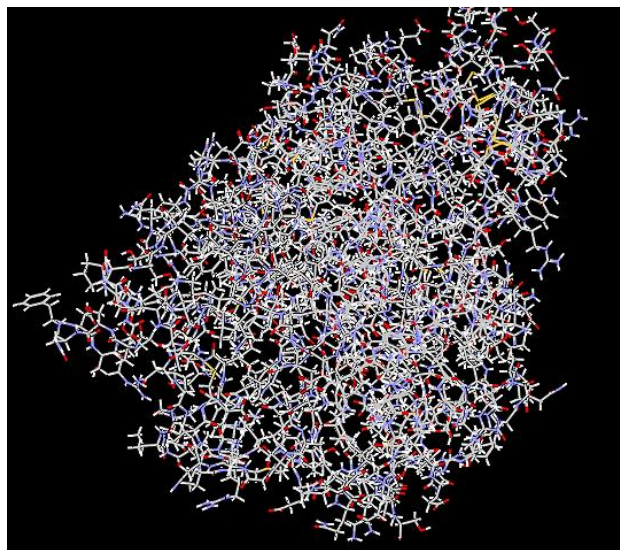
6.2 Preparasi Ligan

Preparasi ligan senyawa uji merupakan langkah awal untuk melakukan *docking*. Hal ini dilakukan dengan cara struktur 2D yang telah dilakukan skrining berdasarkan parameter fisika kimia, selanjutnya dikonversi ke struktur 3D menggunakan *Chem3D trial* versi 12.0. Langkah berikutnya dilakukan minimalisasi energi pada setiap struktur senyawa dengan cara klik *calculations*, *MM2*, *minimize energy*, kemudian klik *run*. Selanjutnya struktur pada tiap senyawa tersebut disimpan dengan format SYBYL2 (*.mol2). Minimalisasi energi dilakukan untuk mempermudah dan menstabilkan susunan ikatan selama proses *docking* dan konversi struktur 2D ke struktur 3D. Selain itu, minimalisasi energi dapat meningkatkan ketepatan dan performa hasil penambatan molekular (Hanif *et al.*, 2020).

Hasil minimalisasi energi disajikan dalam tabel 5.2 yang diperoleh nilai energi terkecil ke nilai terbesar berturut-turut yaitu *hematoxylin* -1,4588 kkal/mol, *caesalpiniaaphenol E* 5,5065 kkal/mol, *brazilin* 10,7623 kkal/mol, *3'-O-methylbrazilin* 14,3277 kkal/mol dan *brazilein* 14,5871 kkal/mol. Hasil minimalisasi energi senyawa pembanding memiliki nilai sebesar -0,4006. Hal ini berarti bahwa senyawa pembanding memiliki energi yang paling kecil dibandingkan senyawa uji. Energi yang diperoleh merupakan energi minimal dari senyawa dalam bentuk paling stabil untuk dilakukan *molecular docking*. Semakin rendah nilai yang dihasilkan, maka senyawa memiliki interaksi gaya tarik menarik antar atom semakin kuat dan gaya tolak antar atom semakin lemah (Meily *et al.*, 2021).

6.3 Preparasi Protein

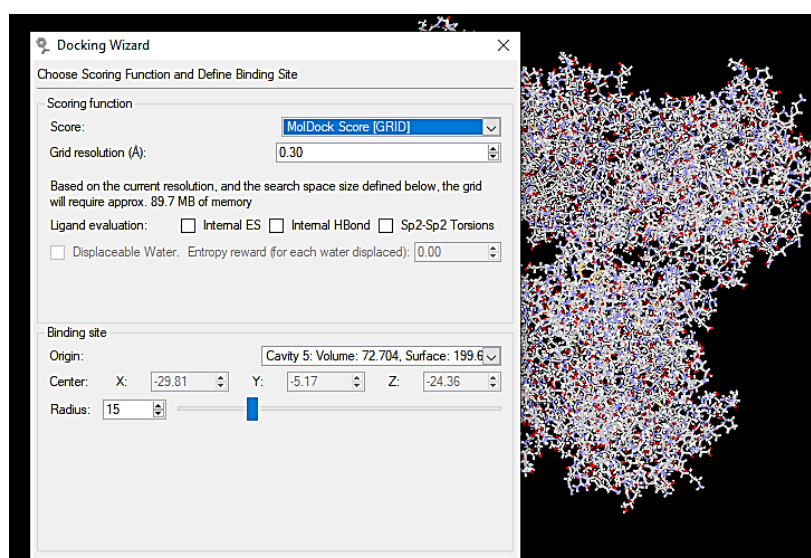
Preparasi protein merupakan langkah penting pada proses *molecular docking* yang diperoleh melalui website PDB. Kode protein tirosinase yang digunakan adalah 5M8M yang diunduh dengan file PDB format melalui situs website (<https://www.rcsb.org/structure/5M8M>). PDB ID: 5M8M merupakan struktur kristal protein pada manusia atau *tyrosinase-related protein 1* yang memiliki *native ligand* asam kojat dengan resolusi sebesar 2,65 Å (RSCB, 2022). Nilai resolusi merupakan selektivitas suatu senyawa yang ditunjukkan dengan nilai yang baik adalah ≥ 2 Å (Martono and Martono, 2012). Protein tirosinase dengan kode 5M8M ini memiliki residu asam amino *Val 196*, *Lys 198*, *Asp 212*, *Thr 391*, *His 392*. Pengikatan senyawa dengan residu asam amino tersebut dapat menghambat aktivitas enzim (Sharmila *et al.*, 2019).



Gambar 6. 1 Struktur kristal tirosinase

Proses *molecular docking* dilakukan menggunakan MVD dengan melakukan *import molecules* PDB ID: 5M8M. Struktur kristal protein tirosinase dapat dilihat pada gambar 6.1. Proses ini dilakukan penghilangan molekul air dengan cara tidak klik centang pada *water* dan *native ligand* yang tidak diperlukan. Keberadaan air menggambarkan keadaan fisiologis pada tubuh. Air dapat membentuk ikatan hidrogen dengan reseptor dan hal ini akan menghalangi proses ikatan ligan dengan reseptor yang seharusnya terjadi (Putri *et al.*, 2022). Penghilangan molekul air ditujukan pula untuk memastikan adanya interaksi antara ligan dengan reseptor dan diharapkan tidak terganggu dengan hal lain yang tidak diharapkan (Muttaqin *et al.*, 2019). Langkah selanjutnya dilakukan prediksi tempat ikatan *native ligand* dengan penentuan *cavity* atau rongga yang berfungsi sebagai tempat ikatan sisi aktif protein dan ligan (Pratoko, 2012). Rongga *cavity* pada protein ditunjukkan dengan warna hijau yang didapatkan dari *cavity 5* dengan volume 72,704 dan luas permukaan (*survace*) 199,68 yang disajikan dalam gambar 5.1.

Proses pemilihan ligan aktif pada *cavity* yang telah dipilih, dilakukan dengan cara klik kanan pada ligan dan klik *set as active ligand*. Ligan KOJ_514 [A] adalah kode untuk *native ligand* protein tirosinase yang terletak pada *cavity* 5. Proses *docking* protein dilakukan dengan cara klik menu *docking* dan pilih *docking wizard*. Proses ini dimulai dengan penentuan *binding site* atau area pengikatan sebagai tempat pengikatan sisi aktif protein dan ligan (Ayuningrum, 2021). Berdasarkan hal tersebut didapatkan bahwa koordinat *scoring function* *MolDock Score [Grid]* resolusi 0,30 pada *binding site center* X = -29,81, Y = -5,17 dan Z = -24,36 dengan radius 15 yang dapat dilihat pada gambar 6.2. Setiap senyawa yang akan di uji dengan protein target, harus berada pada titik koordinat yang sama selama proses *docking* (Nabilah, 2022). Hal ini ditujukan untuk memastikan bahwa senyawa uji ditambatkan pada sisi aktif dari protein tirosinase yang sesuai dengan hasil validasi (Meily et al., 2021).



Gambar 6. 2 Penentuan *binding site* dan koordinat *scoring function*

Proses *docking* dilakukan untuk mendapatkan nilai RMSD sebagai parameter pose antara ligan dengan reseptor. RMSD merupakan jarak ikatan antara *native ligand* dengan protein setelah dilakukan *docking* dengan nilai yang baik adalah $\leq 2\text{\AA}$ (Martínez *et al.*, 2018). Nilai RMSD dinyatakan sebagai pose atau jarak kemiripan koordinat antara ligan dengan reseptor, yang berarti semakin kecil nilai RMSD maka semakin dekat posisi ligan (Nabilah, 2022). Pada penelitian ini, didapatkan hasil nilai RMSD pada protein tirosinase dengan PDB ID: 5M8M sebesar $2,10299\text{\AA}$ yang disajikan pada lampiran 2. Metode *docking* dikatakan baik apabila memiliki nilai RMSD $\leq 2,5\text{\AA}$. Namun apabila nilai yang didapatkan $> 2,5\text{\AA}$, maka hasilnya tidak dapat diterima. Dengan demikian, nilai RMSD protein tirosinase pada proses *docking* sebesar $2,10299\text{\AA}$ merupakan nilai yang baik dan dapat diterima (Rollando, 2018).

6.4 Penambatan Ligan

Penambatan ligan secara *molecular docking* bertujuan untuk dapat memprediksi ikatan ligan dan reseptor dengan parameter yang digunakan adalah nilai *MolDock Score*. Prinsip *molecular docking* adalah terjadinya interaksi atau ikatan antara ligan dan reseptor secara *lock and key* dengan memprediksi kestabilan ikatan yang terbentuk (Ayuningrum, 2021). Proses penambatan ligan dilakukan dengan cara senyawa ligan format SYBL2 (*mol2) di *import molecules* pada MVD. Kemudian dilakukan proses *docking* dengan cara klik menu *docking* dan pilih *docking wizard* lalu proses run akan berjalan. Validasi dilakukan pada *binding site pocket ligand* dengan 50 kali replikasi. Menurut Muchtaridi *et al.*, (2018) semakin banyak replikasi yang dilakukan maka semakin baik aplikasi

tersebut digunakan untuk penambatan. Selain itu juga dimaksudkan untuk memastikan kemampuan orientasi ligan, model pengikatan antara ligan dengan reseptor dan posisi yang dihasilkan dari *molecular docking* (Puspaningtyas, 2013).

Parameter hasil *docking* yang dilakukan adalah nilai *MolDock Score*. *MolDock Score* merupakan nilai yang menunjukkan energi total dari interaksi antara ligan dengan reseptor. *MolDock Score* menggambarkan keseluruhan energi antara ligan dengan reseptor yang meliputi ikatan hidrogen, interaksi sterik dan interaksi elektrostatik. Semakin rendah nilai *MolDock Score* maka energi yang dibutuhkan untuk membentuk ikatan antara ligan dengan reseptor semakin kecil (Gondokesumo and Kurniawan, 2019). Afinitas merupakan kemampuan suatu senyawa berikatan dengan reseptor dengan parameter yang digunakan yaitu nilai *MolDock Score*, residu asam amino dan ikatan hidrogen yang terbentuk (Nabilah, 2022). Penentuan suatu senyawa memiliki nilai afinitas yang baik, dibutuhkan senyawa pembanding sebagai kontrol. Senyawa yang digunakan sebagai senyawa pembanding adalah oksiresveratrol yang telah terbukti memiliki aktivitas tinggi dalam menghambat enzim tirosinase sebesar 55% (Gryn-Rynko *et al.*, 2022).

Hasil nilai *MolDock Score* lima senyawa turunan flavonoid *Caesalpinia sappan* L., senyawa pembanding dan *native ligand* disajikan dalam tabel 5.3. Berdasarkan hasil penelitian, didapatkan bahwa senyawa brazilin dan brazilein memiliki nilai rata-rata *MolDock Score* lebih rendah daripada senyawa pembanding oksiresveratrol dan *native ligand* (asam kojat). Nilai rata-rata *MolDock Score* senyawa pembanding oksiresveratrol sebesar -88,35298 dan

native ligand sebesar -71,65915 sedangkan nilai rata-rata *MolDock Score* brazilin sebesar -90,67802 dan brazilein sebesar -90,91938. Hal ini menunjukkan bahwa semakin rendah nilai *MolDock Score* maka semakin rendah pula energi yang diperlukan untuk membentuk suatu ikatan. Sementara itu, senyawa *hematoxylin*, *caesalпинiaphenol E* dan *3'-O-methylbrazilin* memiliki nilai rata-rata *MolDock Score* lebih besar daripada senyawa pembanding tetapi lebih rendah dibandingkan *native ligand* dengan nilai berturut-turut sebesar -80,71208, -81,21509, dan -81,18347. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa tersebut membutuhkan energi yang lebih besar untuk berikatan dengan reseptor daripada senyawa pembanding. Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa senyawa brazilin dan brazilein memiliki nilai *MolDock Score* lebih rendah daripada senyawa pembanding dan *native ligand* yang berarti bahwa semakin rendah nilainya maka semakin kuat dan stabil ikatan yang terbentuk antara ligan dengan reseptor (Nugraha *et al.*, 2018).

Interaksi ligan dengan residu asam amino terjadi pada *binding site* protein. *Binding site* merupakan tempat pengikatan sisi aktif protein dengan ligan. Interaksi yang terjadi antara ligan dengan residu asam amino membentuk ikatan hidrogen, elektrostatik dan interaksi sterik (Arwansyah *et al.*, 2014). Hasil interaksi asam amino senyawa uji dan senyawa pembanding ditunjukkan pada tabel 5.4 yang didapatkan bahwa hanya terdapat dua jenis ikatan yang terbentuk yaitu ikatan hidrogen dan interaksi sterik. Hasil dari senyawa pembanding oksiresveratrol dan *native ligand* (asam kojat) dapat dijadikan sebagai acuan

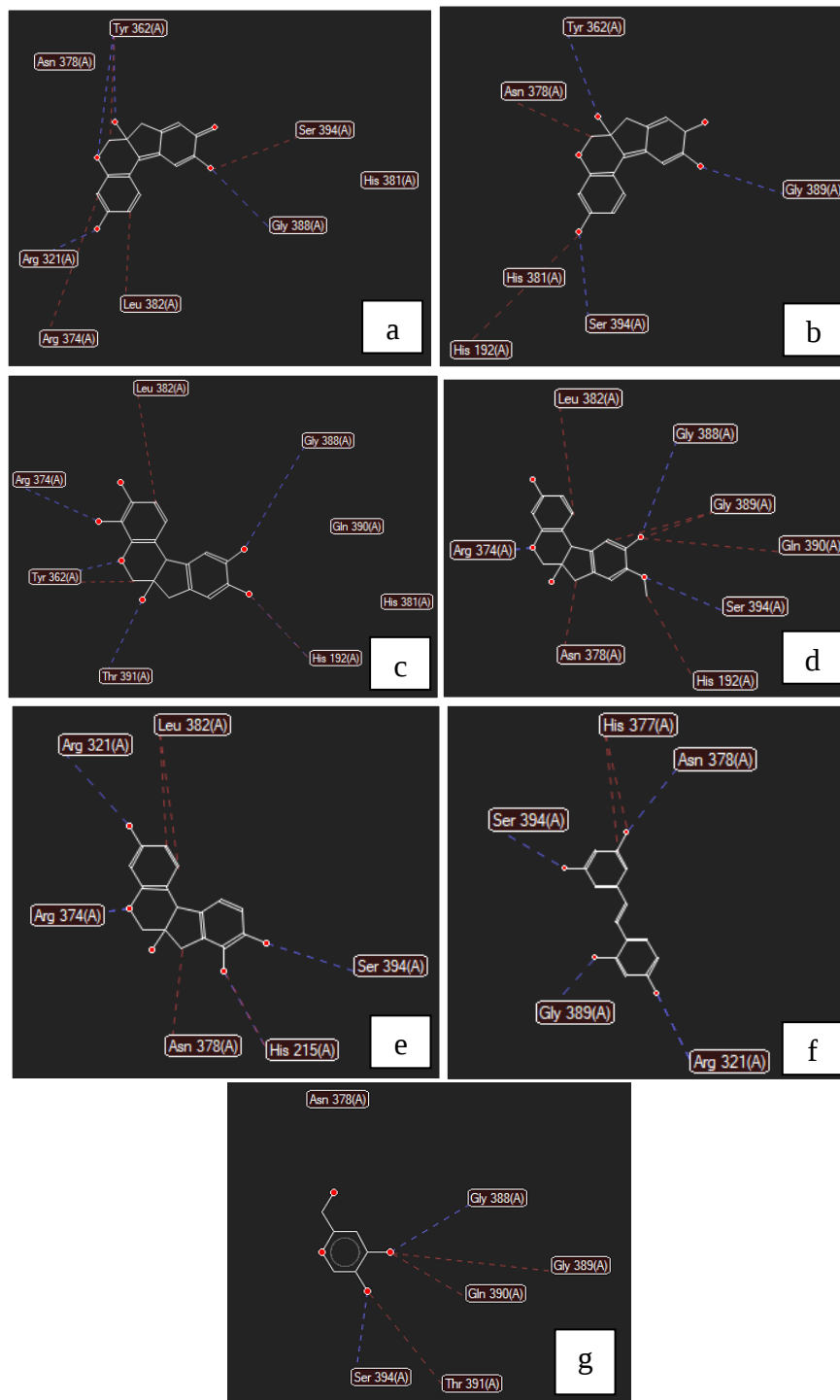
untuk membandingkan residu asam amino yang terikat pada senyawa uji terhadap reseptor (Nabilah, 2022).

Berdasarkan tabel 5.4 didapatkan hasil bahwa senyawa pembanding oksiresveratrol memiliki residu asam amino yaitu *Arg 321, Gly 389, Ser 394, Asn 378 dan His 377*. *Native ligand* memiliki interaksi asam amino yaitu *Gly 388, Ser 394, Gly 389, Gln 390 dan Thr 391*. Interaksi pada senyawa brazilin memiliki kesamaan dengan senyawa pembanding dan *native ligand* yaitu *Gly 389, Ser 394 dan Asn 378*. Senyawa brazilein memiliki interaksi asam amino yang sama dengan senyawa pembanding dan *native ligand* yaitu *Arg 321, Ser 394 dan Gly 388*. Senyawa *caesalpiniaphenol E* memiliki kesamaan interaksi asam amino yaitu *Arg 321, Ser 394 dan Asn 378*. Senyawa *3'-O-methylbrazilin* memiliki kesamaan interaksi asam amino terbanyak yaitu *Ser 394, Asn 378, Gly 388, Gly 389 dan Gln 390*. Senyawa *hematoxylin* memiliki interaksi asam amino yaitu *Thr 391 dan Gly 388*. Hasil interaksi residu asam amino tersebut menunjukkan bahwa terdapat senyawa uji yang memiliki ikatan residu asam amino yang sama dengan senyawa pembanding oksiresvetarol dan *native ligand* (asam kojat). Adanya interaksi residu asam amino yang sama menggambarkan kemampuan aktivitas biologis yang sama pula (Nabilah, 2022).

Ikatan hidrogen terbentuk oleh adanya ikatan antara dua atom yang bersifat elektronegatif dan memiliki sepasang elektron bebas dengan oktet yang lengkap. Ikatan ini bertujuan untuk menstabilkan ikatan antara ligan dan reseptor. Residu asam amino pada ikatan hidrogen menunjukkan sisi perlekatan dari ligan dengan reseptor. Ikatan sterik merupakan ikatan yang dihasilkan dari perpindahan

elektron antar molekul. Ikatan sterik membentuk ikatan yang lemah dan mudah lepas kembali, namun ikatan ini dapat menjadi faktor pengikat yang baik pada senyawa dengan berat molekul yang besar. Ikatan sterik terjadi karena sifat kepolaran molekul dan adanya tarik menarik antar atom yang tidak bermuatan (Nabilah, 2022). Pada tabel 5.4 menunjukkan bahwa residu asam amino pada lima senyawa uji memiliki kesamaan dengan senyawa pembanding oksiresveratrol dan *native ligand* (asam kojat). Hal ini diduga oleh bentuk struktur dari senyawa dengan gugus hidroksil (-OH) yang terdapat pada cincin B di posisi 3' dan 4', cincin A pada posisi 5 dan 7 atau pada cincin C di posisi 3 (Pambudi *et al.*, 2014).

Jumlah dan posisi gugus hidroksil menempel pada struktur benzena berperan penting dalam menentukan penghambatan enzim tirosinase. Penghambatan enzim tirosinase oleh senyawa turunan flavonoid disebabkan oleh interaksi senyawa flavonoid dengan radikal bebas yang dihasilkan pada sisi aktif enzim (Mustika *et al.*, 2020). Gambar 6.3 merupakan hasil gambar dua dimensi interaksi residu asam amino yang ditandai dengan garis putus-putus berwarna biru yaitu ikatan hidrogen dan garis putus-putus berwarna merah yaitu ikatan sterik dari senyawa uji dan senyawa pembanding. Hal ini juga terdapat dilihat pada lampiran 4 yaitu terbentuknya ikatan hidrogen dengan senyawa uji. Hasil proses interaksi senyawa menunjukkan bahwa struktur senyawa mengikat secara tidak keseluruhan, akan tetapi terdapat gugus yang berfungsi sebagai pengikat reseptor atau gugus kromofor (Nabilah, 2022).



Gambar 6. 3 Hasil interaksi asam amino antara protein 5M8M dengan senyawa brazilein (a), brazilin (b), *hematoxylin* (c), *3'-O-methylbrazilin* (d), *caesalpiniphenol E* (e), oksiresveratrol (f), *native ligand* (g)

Keterangan gambar:

Garis biru : ikatan hidrogen

Garis merah : interaksi sterik

Molecular docking lima senyawa turunan flavonoid dari *Caesalpinia sappan* L. dilakukan menggunakan MVD pada sisi aktif protein tirosinase. Semua senyawa dimasukkan kedalam *binding site* dengan perlakuan yang sama dengan replikasi sebanyak 50 kali. Protein yang digunakan adalah tirosinase dengan sisi aktif yang terdapat *native ligand* asam kojat. Tirosinase merupakan monomer yang terdiri dari lipatan α dan β yang ditandai dengan lembaran besar berwarna merah (lipatan β) dan warna biru (lipatan α). Hal ini dapat dilihat pada lampiran 4 yang menunjukkan *secondary structure* atau bentuk pita asam amino dari tirosinase yang berikatan dengan senyawa. Selain itu, sebagian besar residu asam amino pada sisi aktif hidrofobik juga terikat kuat dengan lima senyawa uji yaitu brazilin, brazilein, *hematoxylin*, *caesalpinia*phenol E dan 3'-O-methylbrazilin. Hal ini dapat dilihat pada lampiran 4 yang menunjukkan keserasian interaksi dari ikatan hidrofobik, elektrostatik, *pose organizer* pada senyawa uji yang baik karena ligan uji masuk pada *active site*.

Hasil yang didapatkan pada penelitian ini selaras dengan penelitian lain yaitu penelitian Nugraha *et al.*, (2018) melaporkan bahwa brazilein memiliki nilai energi ikatan lebih rendah daripada asam askorbat dan hidrokuinon. Semakin rendah nilai energi ikatan ligan dengan protein target, maka semakin kuat ikatan yang terbentuk antara ligan dengan protein. Penelitian lain oleh Laksmiani and Nugraha (2019) dihasilkan bahwa brazilin dan brazilein memiliki nilai afinitas yang lebih baik daripada asam kojat dan asam askorbat. hal ini sesuai dengan penelitian kami bahwa brazilin dan brazilin memiliki nilai rata-rata *MolDock Score* yang lebih rendah daripada *native ligand* (asam kojat). Berdasarkan hal

tersebut, dapat disimpulkan bahwa senyawa brazilein dan brazilin memiliki potensi dalam menghambat enzim tirosinase lebih besar daripada dengan senyawa pembanding (Laksmiani *and* Nugraha, 2019).

BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa :

- 1) Lima senyawa turunan flavonoid dari *Caesalpinia sappan* L. yaitu brazilin, brazilein, *hematoxylin*, *caesalpinia*phenol *E* dan 3'-*O-methylbrazilin* memenuhi hukum Lipinski dengan aturan $BM \leq 500$ Da, $\log P \leq 5$, $HBA \leq 10$ dan $HBD \leq 5$.
- 2) Interaksi residu asam amino senyawa brazilin memiliki kesamaan dengan senyawa pembanding dan *native ligand* yaitu Gly 389, Ser 394 dan Asn 378. Pada senyawa brazilein juga memiliki interaksi asam amino yang sama dengan senyawa pembanding dan *native ligand* yaitu Arg 321, Ser 394 dan Gly 388. Hal ini berarti bahwa keduanya diprediksi memiliki ikatan yang lebih stabil. Selain itu, nilai rata-rata *MolDock Score* senyawa brazilin sebesar -90,67802 dan brazilein sebesar -90,91938 dimana hasilnya lebih rendah daripada senyawa pembanding oksiresveratrol sebesar -88,35298 dan *native ligand* (asam kojat) sebesar -71,65915. Hal ini berarti bahwa semakin rendah nilainya maka semakin kuat dan stabil ikatan yang terbentuk antara ligan dengan reseptor. Dengan demikian, potensi senyawa brazilin dan brazilein dalam menghambat enzim tirosinase lebih besar daripada senyawa pembanding oksiresveratrol.

7.2 Saran

- 1) Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada senyawa brazilin dan brazilein untuk mengetahui adanya potensi penghambatan tirosinase secara *in vitro* maupun *in vivo*.
- 2) Perlu dilakukan penelitian pada senyawa turunan flavonoid *Caesalpinia sappan* L. yang lainnya untuk mengetahui potensi penghambatan terhadap enzim tirosinase.

DAFTAR PUSTAKA

- Adnyani, K.D., L. W. E. Lestari., H. Prabowo., P. A. I. A. Siaka., dan N. P. L. Laksmiani. (2019) 'Aktivitas Dari Kuersetin Sebagai Agen Pencerah Kulit Secara in Silico', *Jurnal Kimia (Journal Of Chemistry)*. 13(2), pp. 207–212. Available at: <https://doi.org/10.24843/jchem.2019.v13.i02.p14>.
- Alfaridz, F. and Amalia, R. (2018) 'Klasifikasi dan Aktivitas Farmakologi dari Senyawa Aktif Flavonoid', *Farmaka*, 16(3), pp. 1–9.
- Amanda, S.S. (2021) 'Analisis Molecular Docking Potensi Senyawa Pada Daun Miyana (*Coleus blumei*) Sebagai Antibiotik Terhadap Bakteri MRSA (Metichilin Resisten *Staphylococcus aureus*)', *Skripsi* [Preprint].
- Arwansyah, Ambarsari, L. and Sumaryada, T.I. (2014) 'Simulasi Docking Senyawa Kurkumin Dan Analognya Sebagai Inhibitor Enzim 12-Lipoksigenase', *Current Biochemistry*, 1(1), pp. 11–19.
- Arwansyah and Hasrianti (2014) 'Simulasi Molecular Docking Senyawa Kurkumin dan Analognya Sebagai Selective Androgen Receptor Modulators (SARMs) Pada Kanker Prostat', *Jurnal Dinamika*, 5(2), pp. 60–75.
- Ayuningrum, M. (2021) 'Studi In Silico Potensi Antivirus Senyawa Limonoid Tanaman Mimba (*Azadirachta indica* A. Juss.) Terhadap Reseptor RdRp SARS-CoV-2 (7BV2). Skripsi.', *Skripsi* [Preprint].
- Couteau, C. and Coiffard, L. (2016) 'Overview of skin whitening agents: Drugs and cosmetic products', *Cosmetics*, 3(3). Available at: <https://doi.org/10.3390/cosmetics3030027>.
- Dana, H., Ghanbar, M. C., Elahe, G., Seyed. R. M., Fereidoon. M., Reza. R., Mohammad. R. Z., Peyman. K. Z., and Vahid. M. (2020) 'In silico analysis, molecular docking, molecular dynamic, cloning, expression and purification of chimeric protein in colorectal cancer treatment', *Drug Design, Development and Therapy*, 14, pp. 309–329. Available at: <https://doi.org/10.2147/DDDT.S231958>.
- Fan, J., Fu, A. and Zhang, L. (2019) 'Progress in molecular docking', *Quantitative Biology*, 7(2), pp. 83–89. Available at: <https://doi.org/10.1007/s40484-019-0172-y>.
- Ferreira, L.G., Ricardo, N., Glaucius, O., and Adriano, D. A. (2015) 'Molecular docking and structure-based drug design strategies', *Molecules*, 20(7), pp. 13384–13421. Available at: <https://doi.org/10.3390/molecules200713384>.
- Gajjala, S., Syed, Y. A., Navya, C., and Singireddy, H. (2016) 'The comparative

- study of Hydroquinone and kojic acid in treatment of Melasma in Shadan Institute of Medical Science Teaching Hospital and Research Centre, Himayathsagar road, Hyderabad (Telangana State)', *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences (IOSR-JDMS) e-ISSN*, 15(11), pp. 1–05. Available at: <https://doi.org/10.9790/0853-1511050105>.
- Giantari, N.K.M., Prayoga, I.W.I. dan Laksmiani, N.P.L. (2019) 'Aktivitas Agen Pencerah Kulit Dari Katekin Secara in Silico', *Jurnal Kimia*, 13, pp. 196–200. Available at: <https://doi.org/10.24843/jchem.2019.v13.i02.p12>.
- Gondokesumo, M.E. and Kurniawan, I.M. (2019) 'Molecular docking study of sappan wood extract to inhibit PBP2A enzyme on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)', *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 30(6), pp. 1–9. Available at: <https://doi.org/10.1515/jbcpp-2019-0282>.
- Gryn-Rynko, A., Sperkowska, B. and Majewski, M.S. (2022) 'Screening and Structure-Activity Relationship for Selective and Potent Anti-Melanogenesis Agents Derived from Species of Mulberry (Genus *Morus*)', *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(24). Available at: <https://doi.org/10.3390/molecules27249011>.
- Hanif, A.U., Lukis, P.A. and Fadlan, A. (2020) 'Pengaruh Minimisasi Energi MMFF94 dengan MarvinSketch dan Open Babel PyRx pada Penambatan Molekular Turunan Oksindola Tersubstitusi', *Alchemy*, 8(2), pp. 33–40. Available at: <https://doi.org/10.18860/al.v8i2.10481>.
- Hardjono, S. (2016) 'Prediksi Sifat Farmakokinetik, Toksisitas dan Aktivitas Sitotoksik Turunan N-Benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea sebagai Calon Obat Antikanker melalui Pemodelan Molekul (Prediction of Pharmacokinetic Properties, Toxicity and Derivatives as Anticancer Drugs', *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 14(2), pp. 246–255. Available at: <https://cactus.nci>.
- Hariz, M.F. (2019) 'Uji Sitotoksik, Toksisitas, dan Prediksi Sifat Fisikokimia Senyawa Isoliquiritigenin dan Oxyresveratrol Terhadap Reseptor B-Sel Lymphoma 2 (4AQ3) dan Vaskular Endotelia Growth Factor Reseptor-2 (2RL5) Sebagai Terapi Kanker Servis Secara In Silico', *Skripsi [Preprint]*.
- Isfardiyana, S.H. and Safitri, S.R. (2014) 'Pentingnya melindungi kulit dari sinar ultraviolet dan cara melindungi kulit dengan sunblock buatan sendiri', *Jurnal Inovasi dan Kewirausahaan*, 3(2), pp. 126–133. Available at: <https://journal.uui.ac.id/ajie/article/view/7819>.
- Isnaeni, L., Budi, S. and Kusuma, W. (2016) 'Kajian Hubungan Kuantitatif Struktur Dan Aktivitas Antioksidan Senyawa Analog Kalkon', *Indonesian Journal of Chemical Science*, 5(2), pp. 119–123.

- Jacob, T.N.A. Siswati, A. S., Budiyo, A., Triwahyudi, D., Sirait, S. A., Pandjaitan, Mawardi, P., Budianti, W. K., Dwiyana, R. F., Widasmara, D., Maria, R., dan Tanojo, H. (2020) 'Pengaruh Sinar Ultra Violet Terhadap Kesehatan Kajian Terhadap Berjemur (Sun Exposures)', *Indonesia : Satgas Covid-19 PP PERDOSKI 2017-2020* [Preprint].
- Kim, S., Paul, A. T., Evan, E. B., Jie, C., Gang, F., Asta, G., Lianyi, H., Jane, H., Siqian, H., Benjamin, A. S., Jiyao, W., Bo, Y., Jian, Z., and Stephen, H. B. (2016) 'PubChem substance and compound databases', *Nucleic Acids Research*, 44(D1), pp. D1202–D1213. Available at: <https://doi.org/10.1093/nar/gkv951>.
- Kumar, S. and Pandey, A.K. (2013) 'Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview', *TheScientificWorldJournal*, p. 16. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3891543&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Laksmiani, N.P.L. and Nugraha, I.P.W. (2019) 'Depigmentation activity of secang (Caesalpinia sappan L.) Extract through tyrosinase, tyrosinase related protein-1 and dopachrome tautomerase inhibition', *Biomedical and Pharmacology Journal*, 12(2), pp. 799–808. Available at: <https://doi.org/10.13005/bpj/1703>.
- Likhitwitayawuid, K. (2021) 'Oxyresveratrol: Sources, Productions, Biological Activities, Pharmacokinetics, and Delivery Systems', *Molecules*, 26(1), pp. 1–30.
- Lipinski, C.A. (2004) 'Lead- and drug-like compounds: The rule-of-five revolution', *Drug Discovery Today: Technologies*, 1(4), pp. 337–341. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2004.11.007>.
- Maftucha, N., Rosario, T. M., Rika, A., Petra, C., and Regina, B. (2022) 'Potensi Senyawa Turunan Xanton dari Kulit Buah Manggis (Garcinia mangostana L .) Sebagai Inhibitor Protein Mycobacterium tuberculosis : Studi In Silico Potential of Xanton Derivative Compounds from Mangosteen Peel (Garcinia mangostana L .) As a Protein', *Pharmaceutical Journal Of Indonesia*, 7(2), pp. 123–128.
- Martínez, F.D.P., Arciniega, M. and Franco, J.L.M. (2018) 'Molecular docking: current advances and challenges', *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 21(1), pp. 65–87. Available at: <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2018.0.143>.
- Martono, Y. and Martono, S. (2012) 'Analisis Kromatografi Cair Kinerja Tinggi Untuk Penetapan Kadar Asam Galat, Kafein Dan Epigallocatekin Galat Pada Beberapa Produk Teh Celup', *Agritech*, 32(4), pp. 362–369.

- Masum, M.N., Yamauchi, K. and Mitsunaga, T. (2019) 'Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources as skin-lightening agents', *Reviews in Agricultural Science*, 7, pp. 41–58. Available at: <https://doi.org/10.7831/ras.7.41>.
- Meily, A. Andika dan Aris, P. (2021) 'Studi Penambatan Molekul Senyawa Flavonoid Daun Tabat Barito (*Ficus deltoidea* Jack) Dalam Menghambat Enzim Tirosinase', *Medical Sains : Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 6(1), pp. 25–34. Available at: <https://doi.org/10.37874/ms.v6i1.215>.
- Molegro Virtual Docker (2022) *Molegro Virtual Docker*. Available at: <http://molexus.io/molegro-virtual-docker/>. 20 Desember 2022 (19:20).
- Muchtaridi., Arry, Y., Sandra, M., Hari, P. (2018) *Kimia Medisinal Dasar-Dasar Dalam Perancangan Obat*. Pertama. Jakarta: Prenadamedia Group.
- Mustika, R., Hindun, S. and Auliasari, N. (2020) 'Potensi Tanaman Sebagai Pencerah Wajah Alami', *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 2(4), pp. 558–562. Available at: <https://doi.org/10.25026/jsk.v2i4.233>.
- Muttaqin, F.Z., Ismail, H. and Muhammad, H.N. (2019) 'Studi Molecular Docking, Molecular Dynamic, Dan Prediksi Toksisitas Senyawa Turunan Alkaloid Naftiridin Sebagai Inhibitor Protein Kasein Kinase 2-A Pada Kanker Leukemia', *Pharmacoscript*, 2(1), pp. 49–64. Available at: <https://doi.org/10.36423/pharmacoscript.v2i1.241>.
- Nabilah, R. (2022) 'Studi In Silico Aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Gingerol Dan Shogaol Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) Terhadap Reseptor DNA Gyrase Bakteri', *Skripsi* [Preprint].
- Nomer, N.M.G.R., Duniaji, A.S. and Nocianitri, K.A. (2019) 'Kandungan Senyawa Flavonoid dan Antosianin Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) Serta Aktivitas Antibakteri Terhadap *Vibrio cholerae*', *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 8(2), p. 216. Available at: <https://doi.org/10.24843/itepa.2019.v08.i02.p12>.
- Nugraha, W., Suwartawan, I. W., Prayoga, P. A. A., Laksmiani, N. P. L., Putra, I. G. P., and Ani, N. K. S. (2018) 'Potensi Brazilein Potensi Brazilein dari Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) Sebagai Agen Depigmentasi Kulit Secara In Silico', *Jurnal Farmasi Udayana*, 7(1), p. 1. Available at: <https://doi.org/10.24843/jfu.2018.v07.i01.p02>.
- Nursamsiar, Toding, A.T. and Awaluddin, A. (2016) 'Studi In Silico Senyawa Turunan Analog Kalkon Dan Pirimidin Sebagai Antiinflamasi: Prediksi Absorpsi, Distribusi, dan Toksisitas', *Pharmacy*, 13(01), pp. 92–100.
- Pambudi, A. et al. (2014) 'Identifikasi Bioaktif Golongan Flavonoid Tanaman

- Anting-Anting (*Acalypha indica* L.)', *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains dan Teknologi*, 2(3), p. 178. Available at: <https://doi.org/10.36722/sst.v2i3.139>.
- ParkinElmer (2022) *ChemDraw Professional*. Available at: http://www.cambridgesoft.com/Ensemble_for_Chemistry/details/Default.aspx?fid=14&pid=736. 20 Desember 2022 (19:40).
- Pearce, E.C. (2018) *Anatomi Dan Fisiologi Untuk Paramedis*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama. Available at: <https://doi.org/www.gpu.id>.
- Pratiwi, N.M.G., Saraswati, N.M.A., Dewi, N.M.I.F., Tirta, L.P.P. (2021) 'Potensi Sinamaldehyd sebagai Anti Hiperpigmentasi secara In Silico', *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 7(2), pp. 95–101. Available at: <https://doi.org/10.36733/medicamento.v7i2.1507>.
- Pratoko, D.K. (2012) 'Molecular Docking Senyawa Fitokimia Piper Longum (L.) Terhadap Reseptor Siklooksigenase-2 (Cox-2) Sebagai Antiinflamasi', *Chemistry Progress*, 5(1), pp. 31–36.
- PubChem (2022). <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Diakses 20 Desember 2022.
- Puspaningtyas, A.R. (2013) 'Docking Molekul Dengan Metoda Molegro Virtual Docker Dari Ekstrak Air Psidium guajava, Linn dan Citrus sinensis, Peels Sebagai Inhibitor Pada Tirosinase Untuk Pemutih Kulit', *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*, 15(1), pp. 31–39. Available at: <https://doi.org/10.14203/jkti.v15i1.102>.
- Putri, A.N.P., Fakih, T.M. and Mulyanti, D. (2022) 'Uji Aktivitas In Silico Senyawa Turunan Flavonoid sebagai Antiviral (HIV)', *Bandung Conference Series: Pharmacy*, 2(2), pp. 1–8. Available at: <https://doi.org/10.29313/bcsp.v2i2.4699>.
- Qian, W., Liu, W., Zhu, D., Cao, Y., Tang, A., Gong, G., and Su, H. (2020) 'Natural skin-whitening compounds for the treatment of melanogenesis (Review)', *Experimental and Therapeutic Medicine*, 20(1), pp. 173–185. Available at: <https://doi.org/10.3892/etm.2020.8687>.
- Rastini, M.B.O. Giantari, N.K.M., Adyani, K.D., dan Laksmiani, N.P.L. (2019) 'Molecular Docking Aktivitas Antikanker Dari Kuersetin Terhadap Kanker Payudara Secara in Silico', *Jurnal Kimia*, p. 180. Available at: <https://doi.org/10.24843/jchem.2019.v13.i02.p09>.
- Rollando, R. (2018) 'Pendekatan Struktur Aktivitas dan Penambatan Molekul Senyawa 2-iminoethyl 2-(2-(1-hydroxypentan-2-yl) phenyl)acetate Hasil Isolasi Fungi Endofit Genus *Fusarium* sp pada Enzim β -ketoasil-ACP KasA Sintase dan Enzim Asam Mikolat Siklopropana Sintase',

Pharmaceutical Journal of Indonesia, 3(2), pp. 45–51. Available at: <https://doi.org/10.21776/ub.pji.2017.003.02.2>.

Rose, P.W., Andreas, P., Chunxiao, B., Wolfgang, B., Cole, C., Shucismita, D., Kramer, G., David, G., John, W., Jesse, W., Jasmine, Y., Christine, Z., Helen, B., Philip, B., and Stephen, B. (2015) ‘The RCSB Protein Data Bank: Views of structural biology for basic and applied research and education’, *Nucleic Acids Research*, 43(D1), pp. D345–D356. Available at: <https://doi.org/10.1093/nar/gku1214>.

RSCB (2022). <https://www.rcsb.org/>. Diakses 20 Desember 2022.

RSCB (2023) *PDB TIROSINASE - Protein Data Bank*. Available at: <https://www.rcsb.org/structure/5M8M>. Diakses 20 Desember 2022.

Saifuddin, A., Siswandono and Prajogo, B. (2014) ‘Studi in silico Gendarusin A, B, C, D, dan E untuk prediksi absorpsi dan aktivitas terhadap hialuronidase (Ec 3.2.1.35)’, *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 1(2), pp. 42–47. Available at: <http://journal.unair.ac.id/download-fullpapers-jfikd5b141cb18full.pdf>.

Sari, D.R.T., Krisnamurti, G.C. and Bare, Y. (2022) ‘Virtual Mapping of Secondary Metabolite Activities Containing in *Caesalpinia sappan* L. Heartwood through In Silico Study’, *Journal Pharmasci (Journal of Pharmacy and Science)*, 7(1), pp. 21–28. Available at: <https://doi.org/10.53342/pharmasci.v7i1.274>.

Sari, R. and Suhartati (2016) ‘Secang (*Caesalpinia sappan* L.) : Tumbuhan Herbal Kaya Antioksidan’, *Info Teknis EBONI*, 13(1), pp. 57–68.

Setyawati, N. kadek, Indira, I.G.A.A.E. dan Puspawati, N.M.D. (2019) ‘Insiden dan Profil Melasma di Rumah Sakit Umum Pusat Sanglah Denpasar Periode Januari 2014 sampai Desember 2014’, *E-Jurnal Medika*, 8(2), pp. 1–7.

Sharmila, C.M., Devi, R.C., Sureka, A., MuthuKumar. N.J., and Banumathi (2019) ‘In silico analysis of the effect of vasicine and vasinone against human tyrosinase receptor in the management of hyperpigmentation of skin diseases’, *Asian Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5(3), pp. 518–524. Available at: <https://doi.org/10.31024/ajpp.2019.5.3.13>.

Siswandono (2016) *Kimia Medisinal 1*. Kedua. Surabaya: Airlangga University Press.

Tjitrosoepomo, G. (2013) *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)*. cetakan ke. Yogyakarta: Gadjah Mada Universitas Press.

Utami, N. dan Sari, T.N. (2016) ‘Kegunaan Topikal Vitamin C untuk

Menghilangkan Hiperpigmentasi Periorbital', *Jurnal Majority*, 5(3), pp. 1–5. Available at: <http://repository.lppm.unila.ac.id/2123/1/Tri-Novita-Sari-1.pdf>.

Widiyanti, H., Banon, C. and Adfa, M. (2021) 'Analisis Hubungan Kuantitatif Struktur Terhadap Aktivitas Turunan Senyawa Cubebin Sebagai Antikanker Dengan Metode Recife Model 1 (RM1)', *Bencoolen Journal Of Phramacy*, 1(1), pp. 46–58.

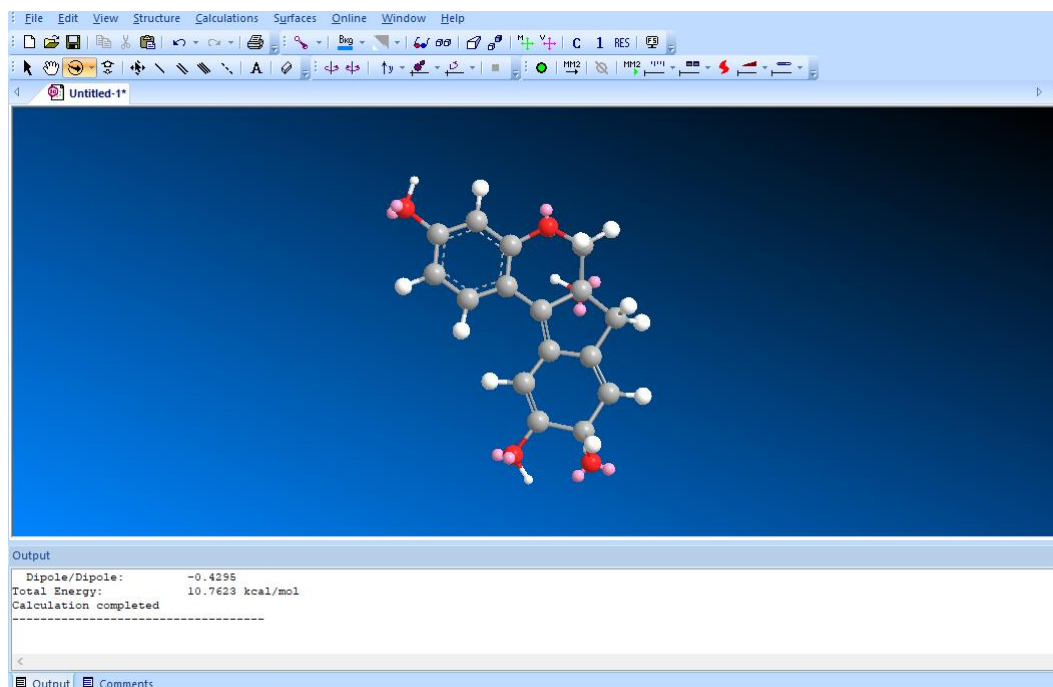
Wulandari, inka R., Isnindar dan Luliana, S. (2022) 'Skrining Fitokimia Dari Ekstrak Etanol Daun Buas-Buas (*Premna serratifolia* Linn.) Dan Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* Linn.)', *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 6(1).

Zhang, S. and Duan, E. (2018) 'Fighting against Skin Aging: The Way from Bench to Bedside', *Cell Transplantation*, 27(5), pp. 729–738. Available at: <https://doi.org/10.1177/0963689717725755>.

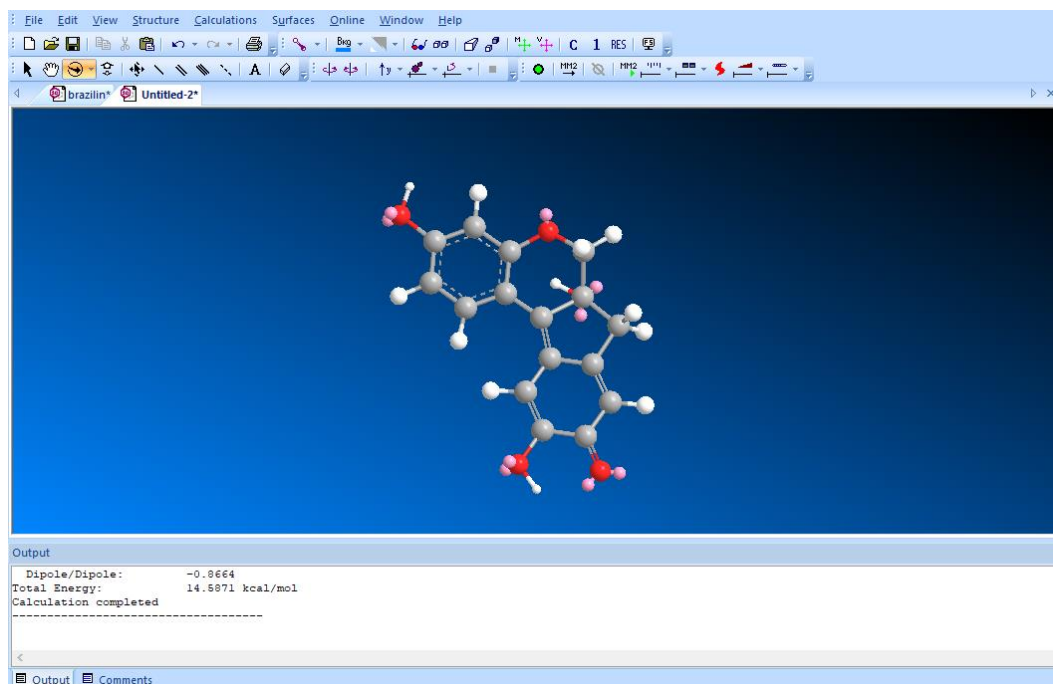
LAMPIRAN

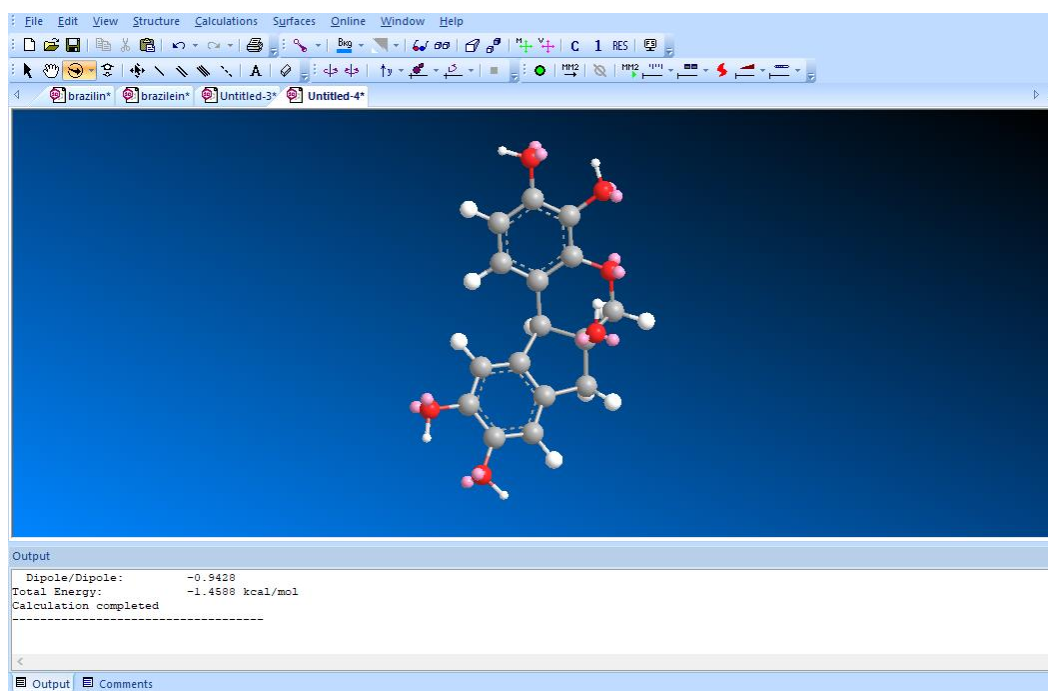
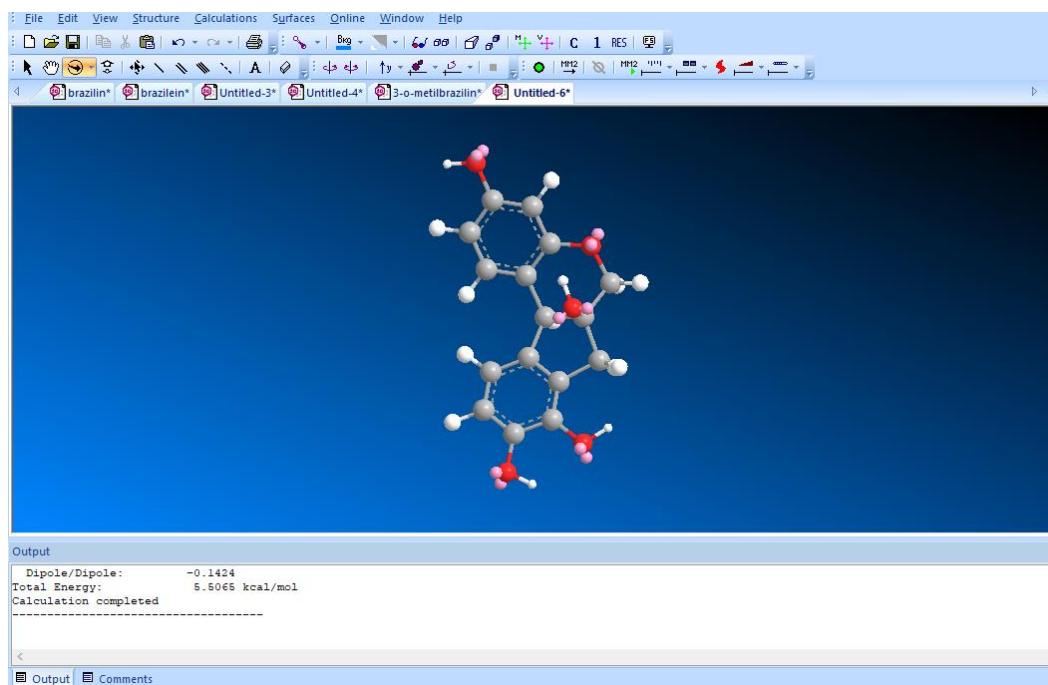
Lampiran 1. Hasil minimalisasi energi senyawa

1) Brazilin

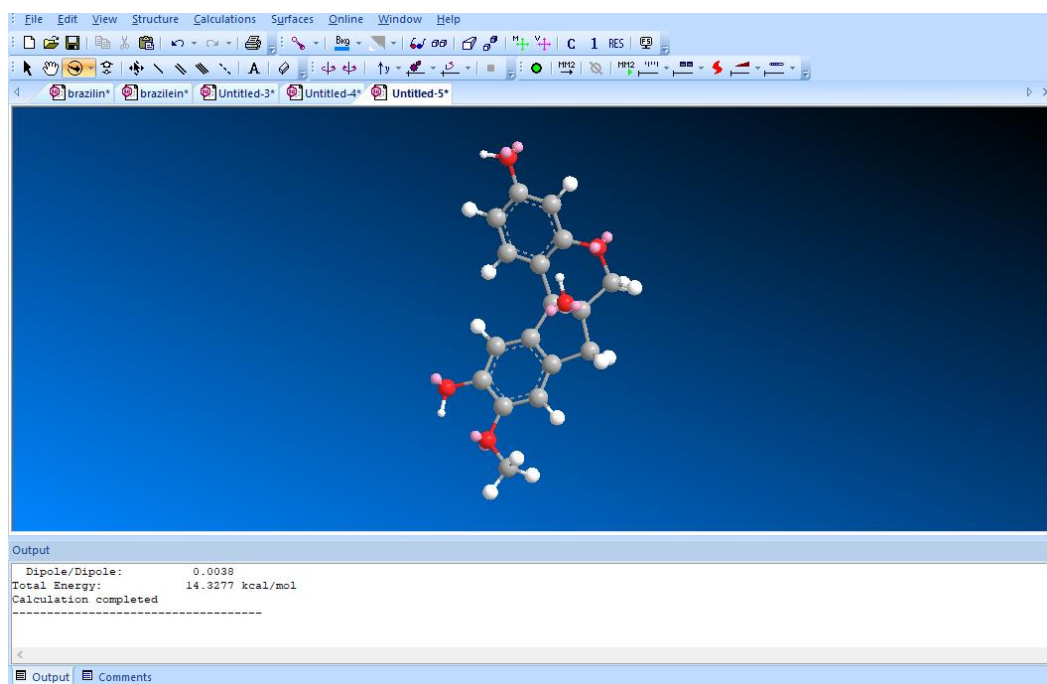


2) Brazilein

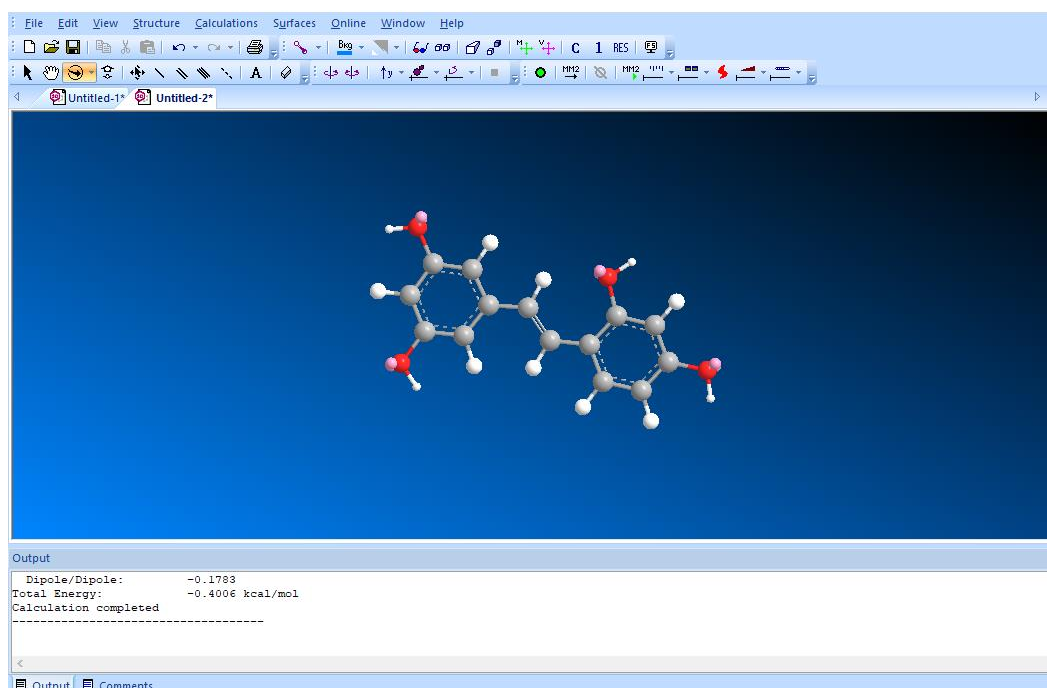


3) *Hematoxylin*4) *Caesalpinaphenol E*

5) 3'-O-methylbrazilin



6) Oksiresveratrol



Lampiran 2. Nilai RMSD tirosinase

Molegro Virtual Docker Batchjob (Finished)

Batchjob started: Thu 9. Mar 13:55:12 2023. Elapsed: 00:00:49

Finish (estimated): 13:56:01. Remaining: 00:00:00

Working path: C:/Users/ASUS/OneDrive/Documents/SKRIPSI/BARU NI

Current ligand (10 / 10 runs)  100%

Log Poses (current ligand) [24] Poses (all) [3] Graph Current script

Filename	Ligand ▲	MolDock Score [GRID] (*)	MolDock Score	Rerank Score	RMSD	Torsions
[00]KOJ_514 [A].mvdml	KOJ_514 [A]	-76.5534	-67.503	-62.1395	2.50596	1
[01]KOJ_514 [A].mvdml	KOJ_514 [A]	-75.8383	-65.2015	-60.3246	2.10299	1
[02]KOJ_514 [A].mvdml	KOJ_514 [A]	-74.0545	-63.5873	-59.2364	2.79922	1

(*) Scoring values obtained before post-processing poses (energy minimization and hydrogen bond optimization).

Results:  ...Drive/Documents/SKRIPSI/BARU NI/DockingResults.mvdresults

Status: Finished.

Pause Close

Lampiran 3. Nilai rata-rata dan standar deviasi *MolDock Score* senyawa

1) Brazilin

No	xi (brazilin)	$\bar{x}$	$xi - \bar{x}$	$(x - \bar{x})^2$
1	-90,5394	-90,67802	0,13862	0,01922
2	-90,7297	-90,67802	-0,05168	0,00267
3	-90,7588	-90,67802	-0,08078	0,00653
4	-90,4857	-90,67802	0,19232	0,03699
5	-90,7512	-90,67802	-0,07318	0,00536
6	-90,7694	-90,67802	-0,09138	0,00835
7	-90,5792	-90,67802	0,09882	0,00977
8	-90,7773	-90,67802	-0,09928	0,00986
9	-90,4893	-90,67802	0,18872	0,03562
10	-90,7665	-90,67802	-0,08848	0,00783
11	-90,7812	-90,67802	-0,10318	0,01065
12	-90,5146	-90,67802	0,16342	0,02671
13	-90,4916	-90,67802	0,18642	0,03475
14	-90,7578	-90,67802	-0,07978	0,00636
15	-90,4926	-90,67802	0,18542	0,03438
16	-90,7239	-90,67802	-0,04588	0,00210
17	-90,5014	-90,67802	0,17662	0,03120
18	-90,7986	-90,67802	-0,12058	0,01454
19	-90,5606	-90,67802	0,11742	0,01379
20	-90,7807	-90,67802	-0,10268	0,01054
21	-90,7629	-90,67802	-0,08488	0,00720
22	-90,7731	-90,67802	-0,09508	0,00904
23	-90,7294	-90,67802	-0,05138	0,00264
24	-90,7399	-90,67802	-0,06188	0,00383
25	-90,7654	-90,67802	-0,08738	0,00763
26	-90,4990	-90,67802	0,17902	0,03205
27	-90,5661	-90,67802	0,11192	0,01253
28	-90,5288	-90,67802	0,14922	0,02227
29	-90,7892	-90,67802	-0,11118	0,01236
30	-90,7704	-90,67802	-0,09238	0,00853
31	-90,7495	-90,67802	-0,07148	0,00511
32	-90,7618	-90,67802	-0,08378	0,00702
33	-90,7621	-90,67802	-0,08408	0,00707
34	-90,7487	-90,67802	-0,07068	0,00500
35	-90,7736	-90,67802	-0,09558	0,00914
36	-90,5292	-90,67802	0,14882	0,02215
37	-90,7740	-90,67802	-0,09598	0,00921
38	-90,7810	-90,67802	-0,10298	0,01060
39	-90,5462	-90,67802	0,13182	0,01738
40	-90,7838	-90,67802	-0,10578	0,01119
41	-90,7634	-90,67802	-0,08538	0,00729

42	-90,5172	-90,67802	0,16082	0,02586
43	-90,4794	-90,67802	0,19862	0,03945
44	-90,7641	-90,67802	-0,08608	0,00741
45	-90,5090	-90,67802	0,16902	0,02857
46	-90,6195	-90,67802	0,05852	0,00342
47	-90,7475	-90,67802	-0,06948	0,00483
48	-90,7732	-90,67802	-0,09518	0,00906
49	-90,7549	-90,67802	-0,07688	0,00591
50	-90,7893	-90,67802	-0,11128	0,01238
			Total	0,69332

Variansi	0,01387
Standar Deviasi	0,11776

2) Brazilein

No	xi (brazilein)	$\bar{x}$	$x_i - \bar{x}$	$(x - \bar{x})^2$
1	-90,9233	-90,91938	-0,00392	0,00002
2	-90,9141	-90,91938	0,00528	0,00003
3	-90,9092	-90,91938	0,01018	0,00010
4	-90,9237	-90,91938	-0,00432	0,00002
5	-90,9225	-90,91938	-0,00312	0,00001
6	-90,9207	-90,91938	-0,00132	0,00000
7	-90,9695	-90,91938	-0,05012	0,00251
8	-90,9218	-90,91938	-0,00242	0,00001
9	-90,9151	-90,91938	0,00428	0,00002
10	-90,9198	-90,91938	-0,00042	0,00000
11	-90,9198	-90,91938	-0,00042	0,00000
12	-90,9192	-90,91938	0,00018	0,00000
13	-90,9186	-90,91938	0,00078	0,00000
14	-90,8905	-90,91938	0,02888	0,00083
15	-90,9262	-90,91938	-0,00682	0,00005
16	-90,9100	-90,91938	0,00938	0,00009
17	-90,9215	-90,91938	-0,00212	0,00000
18	-90,9140	-90,91938	0,00538	0,00003
19	-90,9187	-90,91938	0,00068	0,00000
20	-90,9237	-90,91938	-0,00432	0,00002
21	-90,9181	-90,91938	0,00128	0,00000
22	-90,9171	-90,91938	0,00228	0,00001
23	-90,9183	-90,91938	0,00108	0,00000
24	-90,9156	-90,91938	0,00378	0,00001
25	-90,9298	-90,91938	-0,01042	0,00011
26	-90,9226	-90,91938	-0,00322	0,00001
27	-90,9244	-90,91938	-0,00502	0,00003
28	-90,9197	-90,91938	-0,00032	0,00000
29	-90,9017	-90,91938	0,01768	0,00031
30	-90,9278	-90,91938	-0,00842	0,00007
31	-90,9219	-90,91938	-0,00252	0,00001
32	-90,9183	-90,91938	0,00108	0,00000
33	-90,9217	-90,91938	-0,00232	0,00001
34	-90,9199	-90,91938	-0,00052	0,00000
35	-90,9120	-90,91938	0,00738	0,00005
36	-90,9102	-90,91938	0,00918	0,00008
37	-90,9220	-90,91938	-0,00262	0,00001
38	-90,9110	-90,91938	0,00838	0,00007
39	-90,9194	-90,91938	-0,00002	0,00000
40	-90,9259	-90,91938	-0,00652	0,00004
41	-90,9266	-90,91938	-0,00722	0,00005
42	-90,9116	-90,91938	0,00778	0,00006
43	-90,9219	-90,91938	-0,00252	0,00001

44	-90,9147	-90,91938	0,00468	0,00002
45	-90,9196	-90,91938	-0,00022	0,00000
46	-90,9260	-90,91938	-0,00662	0,00004
47	-90,9207	-90,91938	-0,00132	0,00000
48	-90,9183	-90,91938	0,00108	0,00000
49	-90,9184	-90,91938	0,00098	0,00000
50	-90,9119	-90,91938	0,00748	0,00006
			Total	0,00480

Variansi	0,00010
Standar Deviasi	0,00980

3) *Hematoxylin*

No	xi (Hematox)	$\bar{x}$	xi - $\bar{x}$	(x - $\bar{x}$) ²
1	-80,1571	-80,71208	0,55498	0,30800
2	-81,0503	-80,71208	-0,33822	0,11439
3	-81,3377	-80,71208	-0,62562	0,39140
4	-78,8925	-80,71208	1,81958	3,31086
5	-79,2103	-80,71208	1,50178	2,25534
6	-81,7023	-80,71208	-0,99022	0,98054
7	-78,8714	-80,71208	1,84068	3,38810
8	-81,9562	-80,71208	-1,24412	1,54784
9	-81,0622	-80,71208	-0,35012	0,12259
10	-78,8682	-80,71208	1,84388	3,39989
11	-80,9263	-80,71208	-0,21422	0,04589
12	-80,624	-80,71208	0,08808	0,00776
13	-80,0399	-80,71208	0,67218	0,45182
14	-81,7508	-80,71208	-1,03872	1,07894
15	-81,4332	-80,71208	-0,72112	0,52002
16	-81,7322	-80,71208	-1,02012	1,04065
17	-81,7338	-80,71208	-1,02172	1,04392
18	-78,9963	-80,71208	1,71578	2,94389
19	-81,7211	-80,71208	-1,00902	1,01813
20	-78,8802	-80,71208	1,83188	3,35578
21	-78,8749	-80,71208	1,83718	3,37522
22	-81,7028	-80,71208	-0,99072	0,98153
23	-81,8921	-80,71208	-1,18002	1,39245
24	-78,8985	-80,71208	1,81358	3,28907
25	-78,8656	-80,71208	1,84648	3,40948
26	-81,9001	-80,71208	-1,18802	1,41140
27	-82,3236	-80,71208	-1,61152	2,59700
28	-82,4738	-80,71208	-1,76172	3,10366
29	-80,0204	-80,71208	0,69168	0,47842
30	-79,908	-80,71208	0,80408	0,64654
31	-81,7769	-80,71208	-1,06482	1,13385
32	-81,644	-80,71208	-0,93192	0,86848
33	-81,4946	-80,71208	-0,78252	0,61234
34	-81,3751	-80,71208	-0,66302	0,43960
35	-80,1027	-80,71208	0,60938	0,37134
36	-81,7884	-80,71208	-1,07632	1,15847
37	-78,8793	-80,71208	1,83278	3,35908
38	-81,8301	-80,71208	-1,11802	1,24997
39	-81,1437	-80,71208	-0,43162	0,18630
40	-82,0309	-80,71208	-1,31882	1,73929
41	-82,0199	-80,71208	-1,30782	1,71040
42	-81,6848	-80,71208	-0,97272	0,94619
43	-79,9359	-80,71208	0,77618	0,60245

44	-78,892	-80,71208	1,82008	3,31268
45	-80,1429	-80,71208	0,56918	0,32396
46	-81,8735	-80,71208	-1,16142	1,34890
47	-78,8864	-80,71208	1,82568	3,33310
48	-81,7451	-80,71208	-1,03302	1,06713
49	-78,8901	-80,71208	1,82198	3,31960
50	-81,6618	-80,71208	-0,94972	0,90197
			Total	75,99562
	Variansi	1,51991		
	Standar Deviasi	1,23285		

4) *Caesalpinia phenol E*

No	xi (Caesalpin)	$\bar{x}$	$xi - \bar{x}$	$(x - \bar{x})^2$
1	-81,0793	-81,21509	0,13579	0,01844
2	-81,0189	-81,21509	0,19619	0,03849
3	-81,0854	-81,21509	0,12969	0,01682
4	-81,0978	-81,21509	0,11729	0,01376
5	-81,0496	-81,21509	0,16549	0,02739
6	-81,0653	-81,21509	0,14979	0,02244
7	-81,0784	-81,21509	0,13669	0,01868
8	-81,0352	-81,21509	0,17989	0,03236
9	-81,0224	-81,21509	0,19269	0,03713
10	-81,118	-81,21509	0,09709	0,00943
11	-81,0677	-81,21509	0,14739	0,02172
12	-81,0421	-81,21509	0,17299	0,02992
13	-81,0458	-81,21509	0,16929	0,02866
14	-81,1173	-81,21509	0,09779	0,00956
15	-81,0953	-81,21509	0,11979	0,01435
16	-81,0845	-81,21509	0,13059	0,01705
17	-81,0456	-81,21509	0,16949	0,02873
18	-81,0814	-81,21509	0,13369	0,01787
19	-81,0966	-81,21509	0,11849	0,01404
20	-81,0551	-81,21509	0,15999	0,02560
21	-81,0311	-81,21509	0,18399	0,03385
22	-81,0628	-81,21509	0,15229	0,02319
23	-81,0116	-81,21509	0,20349	0,04141
24	-81,0405	-81,21509	0,17459	0,03048
25	-81,037	-81,21509	0,17809	0,03171
26	-83,1697	-81,21509	-1,95461	3,82052
27	-81,1609	-81,21509	0,05419	0,00294
28	-81,0281	-81,21509	0,18699	0,03496
29	-81,02	-81,21509	0,19509	0,03806
30	-81,0223	-81,21509	0,19279	0,03717
31	-81,0621	-81,21509	0,15299	0,02340
32	-81,0618	-81,21509	0,15329	0,02350
33	-81,0314	-81,21509	0,18369	0,03374
34	-82,9881	-81,21509	-1,77301	3,14358
35	-81,0106	-81,21509	0,20449	0,04181
36	-81,0579	-81,21509	0,15719	0,02471
37	-81,0229	-81,21509	0,19219	0,03694
38	-80,9856	-81,21509	0,22949	0,05266
39	-83,0141	-81,21509	-1,79901	3,23645
40	-82,9947	-81,21509	-1,77961	3,16703
41	-81,0414	-81,21509	0,17369	0,03017
42	-81,0318	-81,21509	0,18329	0,03359

43	-81,043	-81,21509	0,17209	0,02961
44	-81,0731	-81,21509	0,14199	0,02016
45	-81,1042	-81,21509	0,11089	0,01230
46	-81,0823	-81,21509	0,13279	0,01763
47	-81,0331	-81,21509	0,18199	0,03312
48	-81,0759	-81,21509	0,13919	0,01937
49	-81,0557	-81,21509	0,15939	0,02540
50	-81,0189	-81,21509	0,19619	0,03849
			Total	14,58037
	Variansi	0,29161		
	Standar Deviasi	0,54001		

5) 3'-O-methylbrazilin

No	xi (3-O-Methyl)	$\bar{x}$	$xi - \bar{x}$	$(x - \bar{x})^2$
1	-83,7945	-84,18347	0,38897	0,15130
2	-83,8636	-84,18347	0,31987	0,10232
3	-83,8234	-84,18347	0,36007	0,12965
4	-83,962	-84,18347	0,22147	0,04905
5	-83,8137	-84,18347	0,36977	0,13673
6	-84,4955	-84,18347	-0,31203	0,09736
7	-84,0238	-84,18347	0,15967	0,02549
8	-83,9921	-84,18347	0,19137	0,03662
9	-83,8002	-84,18347	0,38327	0,14690
10	-83,8534	-84,18347	0,33007	0,10895
11	-83,8288	-84,18347	0,35467	0,12579
12	-83,8141	-84,18347	0,36937	0,13643
13	-83,7898	-84,18347	0,39367	0,15498
14	-83,8008	-84,18347	0,38267	0,14644
15	-85,1365	-84,18347	-0,95303	0,90827
16	-83,9356	-84,18347	0,24787	0,06144
17	-85,6201	-84,18347	-1,43663	2,06391
18	-83,9064	-84,18347	0,27707	0,07677
19	-83,8067	-84,18347	0,37677	0,14196
20	-83,822	-84,18347	0,36147	0,13066
21	-83,7897	-84,18347	0,39377	0,15505
22	-83,8359	-84,18347	0,34757	0,12080
23	-83,858	-84,18347	0,32547	0,10593
24	-83,8627	-84,18347	0,32077	0,10289
25	-83,7783	-84,18347	0,40517	0,16416
26	-83,8136	-84,18347	0,36987	0,13680
27	-85,1386	-84,18347	-0,95513	0,91227
28	-83,7889	-84,18347	0,39457	0,15569
29	-85,9513	-84,18347	-1,76783	3,12522
30	-83,8018	-84,18347	0,38167	0,14567
31	-83,8052	-84,18347	0,37827	0,14309
32	-83,8434	-84,18347	0,34007	0,11565
33	-83,7848	-84,18347	0,39867	0,15894
34	-84,162	-84,18347	0,02147	0,00046
35	-85,2659	-84,18347	-1,08243	1,17165
36	-83,7943	-84,18347	0,38917	0,15145
37	-86,9423	-84,18347	-2,75883	7,61114
38	-84,9428	-84,18347	-0,75933	0,57658
39	-83,8344	-84,18347	0,34907	0,12185
40	-83,833	-84,18347	0,35047	0,12283
41	-84,0191	-84,18347	0,16437	0,02702
42	-83,802	-84,18347	0,38147	0,14552
43	-83,8173	-84,18347	0,36617	0,13408

44	-85,2192	-84,18347	-1,03573	1,07274
45	-83,952	-84,18347	0,23147	0,05358
46	-83,8116	-84,18347	0,37187	0,13829
47	-86,0132	-84,18347	-1,82973	3,34791
48	-83,8003	-84,18347	0,38317	0,14682
49	-83,934	-84,18347	0,24947	0,06224
50	-84,0949	-84,18347	0,08857	0,00784
			Total	25,36518
	Variansi	0,50730		
	Standar Deviasi	0,71225		

6) Oksiresveratrol

No	xi (Oksires)	$\bar{x}$	$xi - \bar{x}$	$(x - \bar{x})^2$
1	-88,1682	-88,35298	0,18478	0,03414
2	-88,3955	-88,35298	-0,04252	0,00181
3	-88,3306	-88,35298	0,02238	0,00050
4	-88,3352	-88,35298	0,01778	0,00032
5	-88,2099	-88,35298	0,14308	0,02047
6	-88,3613	-88,35298	-0,00832	0,00007
7	-88,3734	-88,35298	-0,02042	0,00042
8	-88,3195	-88,35298	0,03348	0,00112
9	-88,3279	-88,35298	0,02508	0,00063
10	-88,3419	-88,35298	0,01108	0,00012
11	-88,2956	-88,35298	0,05738	0,00329
12	-88,3288	-88,35298	0,02418	0,00058
13	-88,4569	-88,35298	-0,10392	0,01080
14	-88,2834	-88,35298	0,06958	0,00484
15	-88,4202	-88,35298	-0,06722	0,00452
16	-88,4814	-88,35298	-0,12842	0,01649
17	-88,4393	-88,35298	-0,08632	0,00745
18	-88,3795	-88,35298	-0,02652	0,00070
19	-88,4041	-88,35298	-0,05112	0,00261
20	-88,3883	-88,35298	-0,03532	0,00125
21	-88,3065	-88,35298	0,04648	0,00216
22	-88,3785	-88,35298	-0,02552	0,00065
23	-88,3531	-88,35298	-0,00012	0,00000
24	-88,373	-88,35298	-0,02002	0,00040
25	-88,3383	-88,35298	0,01468	0,00022
26	-88,3737	-88,35298	-0,02072	0,00043
27	-88,3954	-88,35298	-0,04242	0,00180
28	-88,3854	-88,35298	-0,03242	0,00105
29	-88,5526	-88,35298	-0,19962	0,03985
30	-88,4067	-88,35298	-0,05372	0,00289
31	-88,4156	-88,35298	-0,06262	0,00392
32	-88,3819	-88,35298	-0,02892	0,00084
33	-88,4307	-88,35298	-0,07772	0,00604
34	-88,3547	-88,35298	-0,00172	0,00000
35	-88,3781	-88,35298	-0,02512	0,00063
36	-88,3734	-88,35298	-0,02042	0,00042
37	-88,1848	-88,35298	0,16818	0,02829
38	-88,3338	-88,35298	0,01918	0,00037
39	-88,248	-88,35298	0,10498	0,01102
40	-88,2936	-88,35298	0,05938	0,00353
41	-88,5586	-88,35298	-0,20562	0,04228
42	-88,2865	-88,35298	0,06648	0,00442
43	-88,2984	-88,35298	0,05458	0,00298

44	-88,3865	-88,35298	-0,03352	0,00112
45	-88,187	-88,35298	0,16598	0,02755
46	-88,1717	-88,35298	0,18128	0,03286
47	-88,3605	-88,35298	-0,00752	0,00006
48	-88,3436	-88,35298	0,00938	0,00009
49	-88,3552	-88,35298	-0,00222	0,00000
50	-88,4024	-88,35298	-0,04942	0,00244
			Total	0,33044
	Variansi	0,00661		
	Standar Deviasi	0,08129		

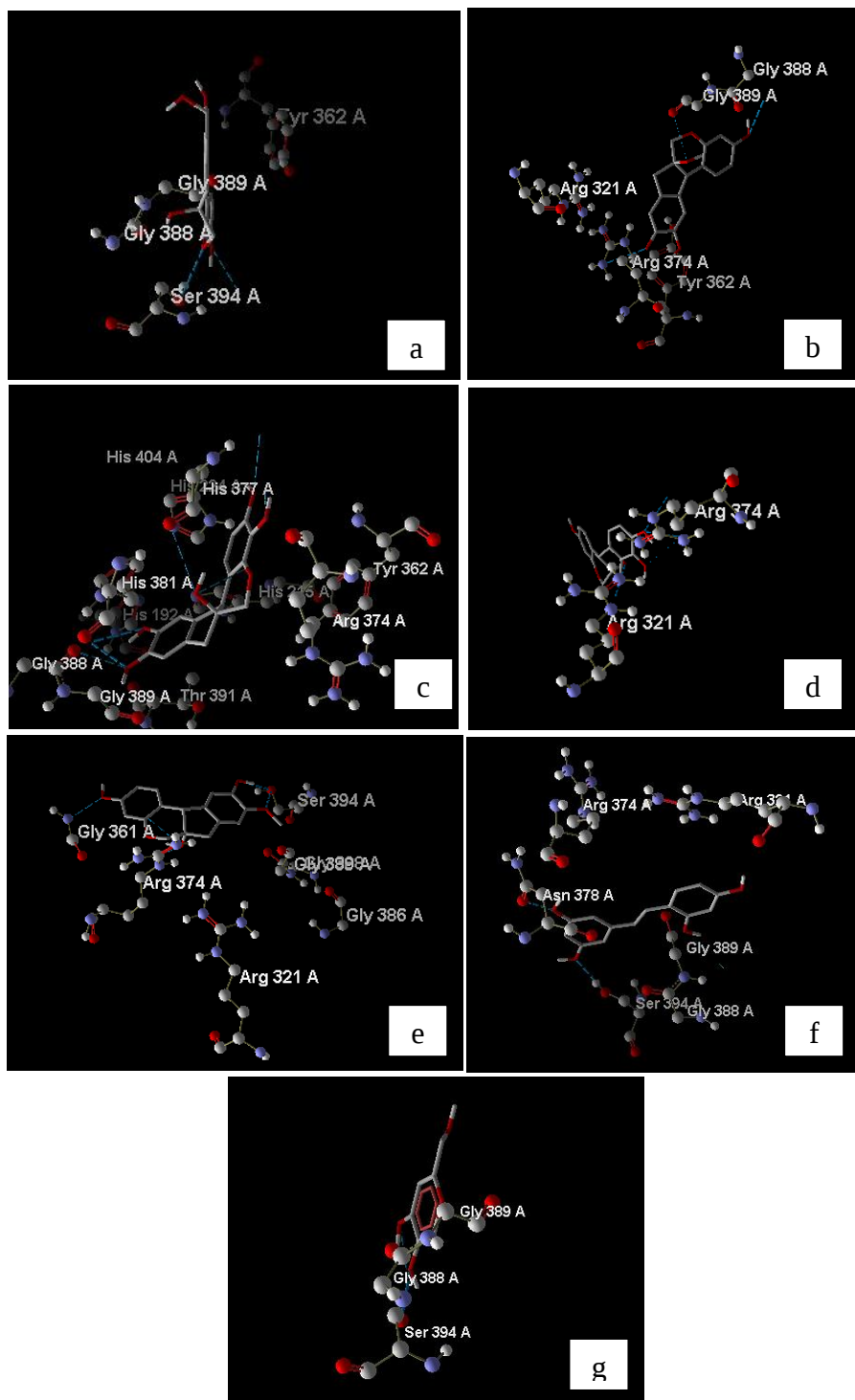
7) *Native ligand* (asam kojat)

No	xi (native)	$\bar{x}$	$xi - \bar{x}$	$(x - \bar{x})^2$
1	-72,7444	-71,65915	-1,08525	1,17776
2	-71,7595	-71,65915	-0,10035	0,01007
3	-71,7261	-71,65915	-0,06695	0,00448
4	-71,6623	-71,65915	-0,00315	0,00001
5	-71,7355	-71,65915	-0,07635	0,00583
6	-71,6238	-71,65915	0,03535	0,00125
7	-70,8523	-71,65915	0,80685	0,65101
8	-71,635	-71,65915	0,02415	0,00058
9	-71,2648	-71,65915	0,39435	0,15551
10	-71,6339	-71,65915	0,02525	0,00064
11	-71,7953	-71,65915	-0,13615	0,01854
12	-71,6456	-71,65915	0,01355	0,00018
13	-71,8178	-71,65915	-0,15865	0,02517
14	-71,7794	-71,65915	-0,12025	0,01446
15	-71,592	-71,65915	0,06715	0,00451
16	-71,7101	-71,65915	-0,05095	0,00260
17	-71,6546	-71,65915	0,00455	0,00002
18	-71,7412	-71,65915	-0,08205	0,00673
19	-71,3148	-71,65915	0,34435	0,11858
20	-71,6879	-71,65915	-0,02875	0,00083
21	-71,0795	-71,65915	0,57965	0,33600
22	-71,7311	-71,65915	-0,07195	0,00518
23	-71,6784	-71,65915	-0,01925	0,00037
24	-71,6675	-71,65915	-0,00835	0,00007
25	-72,8331	-71,65915	-1,17395	1,37815
26	-71,764	-71,65915	-0,10485	0,01099
27	-71,0922	-71,65915	0,56695	0,32143
28	-71,6402	-71,65915	0,01895	0,00036
29	-71,8487	-71,65915	-0,18955	0,03593
30	-70,6497	-71,65915	1,00945	1,01899
31	-71,8724	-71,65915	-0,21325	0,04547
32	-71,7474	-71,65915	-0,08825	0,00779
33	-71,6781	-71,65915	-0,01895	0,00036
34	-71,7348	-71,65915	-0,07565	0,00572
35	-71,8087	-71,65915	-0,14955	0,02236
36	-71,6484	-71,65915	0,01075	0,00012
37	-71,723	-71,65915	-0,06385	0,00408
38	-71,8126	-71,65915	-0,15345	0,02355
39	-71,7347	-71,65915	-0,07555	0,00571
40	-71,0995	-71,65915	0,55965	0,31321

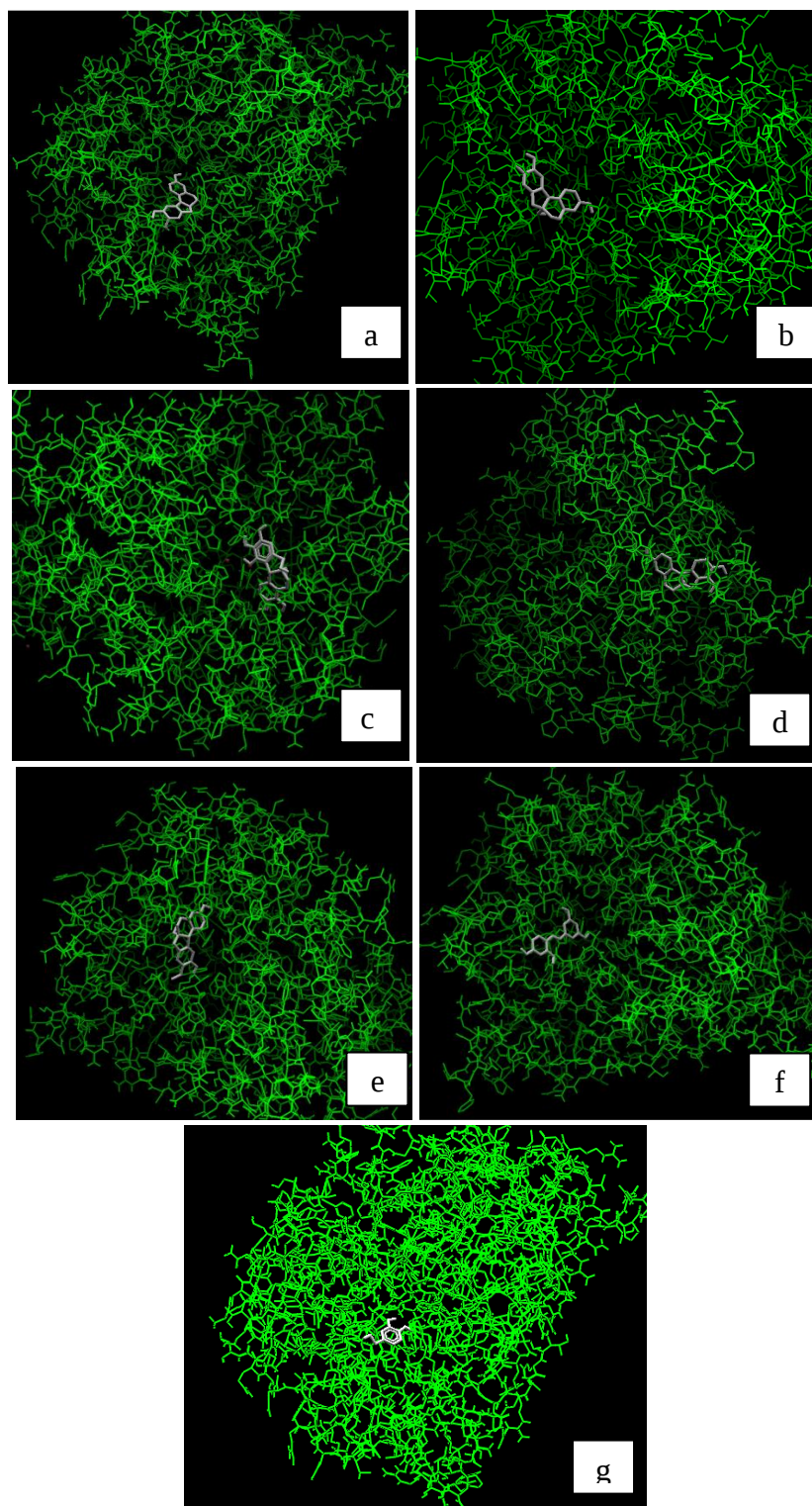
41	-71,7769	-71,65915	-0,11775	0,01386
42	-71,0823	-71,65915	0,57685	0,33276
43	-71,7264	-71,65915	-0,06725	0,00452
44	-71,6453	-71,65915	0,01385	0,00019
45	-71,7818	-71,65915	-0,12265	0,01504
46	-70,9013	-71,65915	0,75785	0,57434
47	-72,5931	-71,65915	-0,93395	0,87226
48	-71,7462	-71,65915	-0,08705	0,00758
49	-71,7185	-71,65915	-0,05935	0,00352
50	-71,7655	-71,65915	-0,10635	0,01131
			Total	7,56999
Variansi		0,15140		
Standar deviasi		0,38910		

Lampiran 4. Hasil interaksi yang terjadi pada senyawa

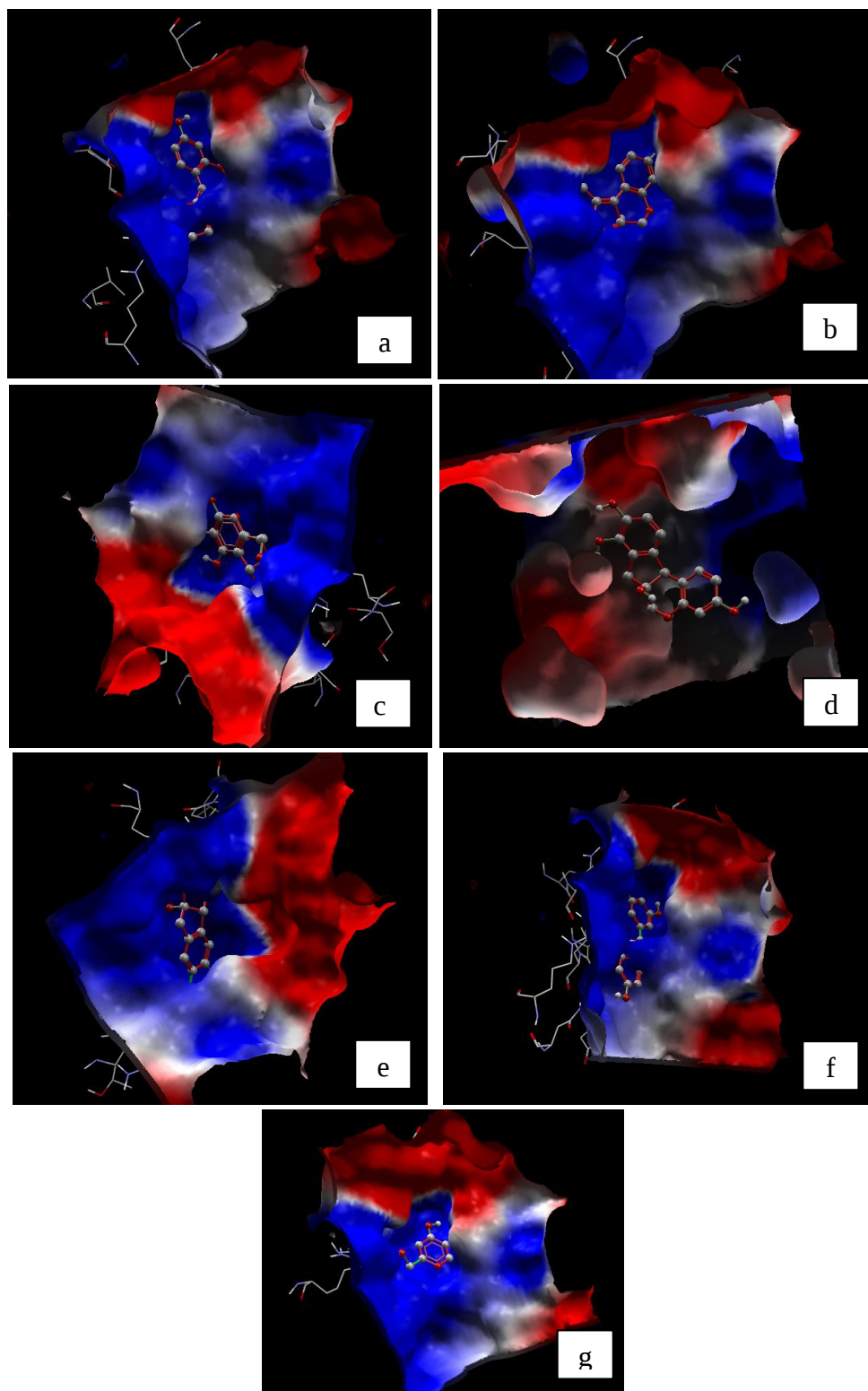
- 1) Interaksi ikatan hidrogen brazilin (a), brazilein (b), *hematoxylin* (c), *caesalpinia*phenol E (d), 3'-O-methylbrazilin (e), oksiresveratrol (f) dan *native ligand* (g).



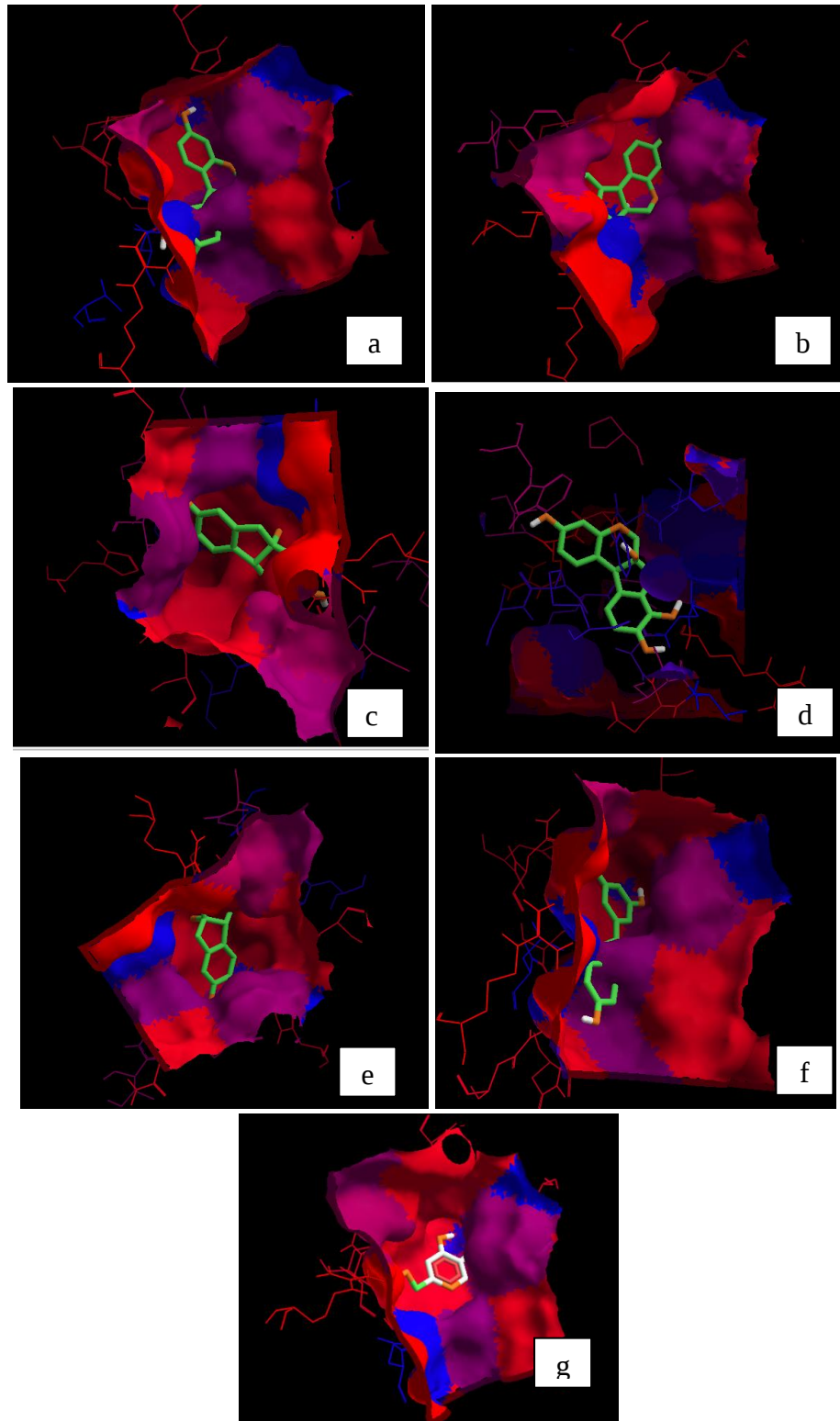
- 2) Docking view senyawa brazilin (a), brazilein (b), *hematoxylin* (c), *caesalpinia*phenol E (d), 3'-O-methylbrazilin (e), oksiresveratrol (f) dan native ligand (g).



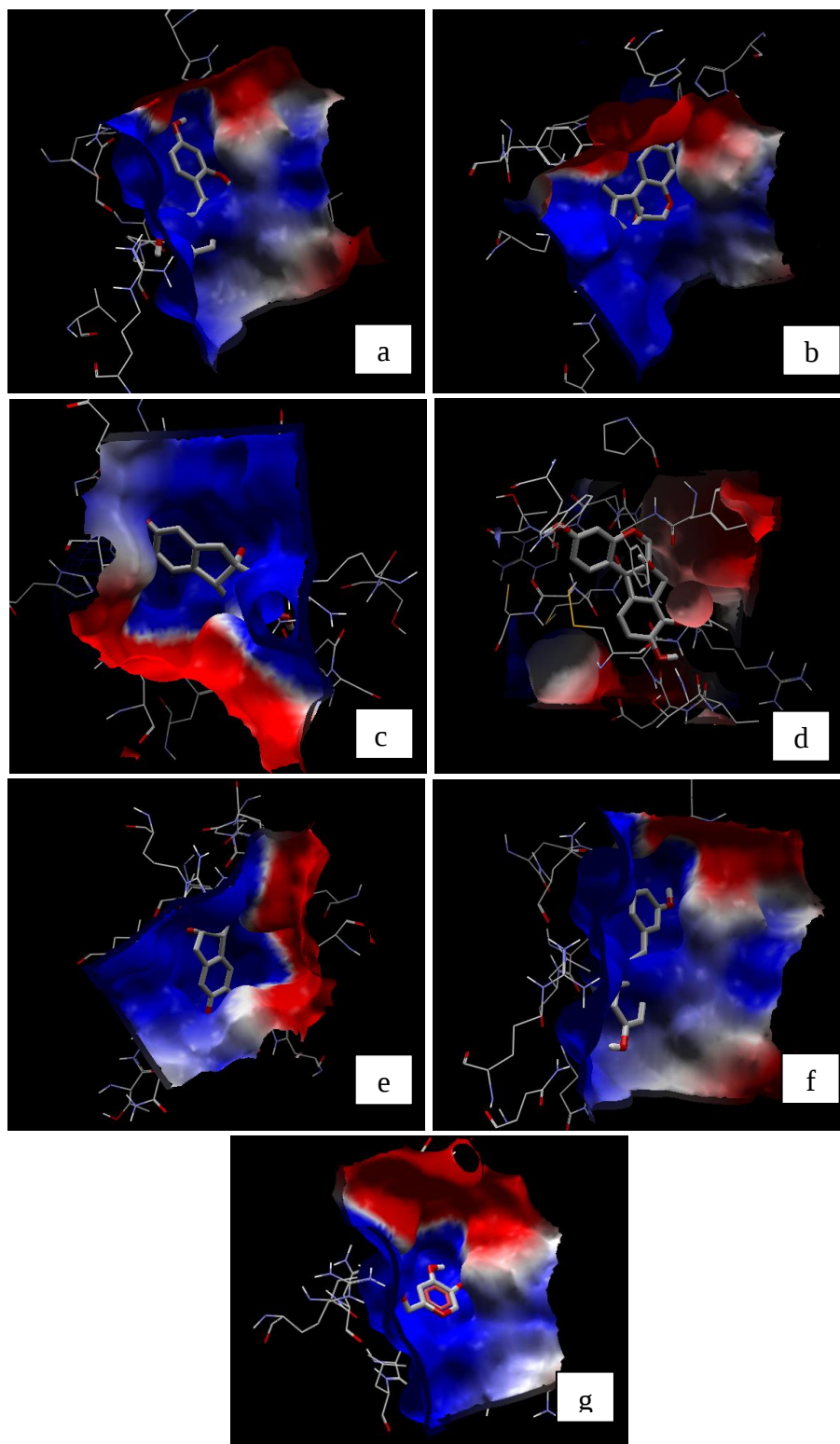
- 3) Preparation view senyawa brazilin (a), brazilein (b), *hematoxylin* (c), *caesalpinia*phenol E (d), 3'-O-methylbrazilin (e), oksiresveratrol (f) dan native ligand (g).



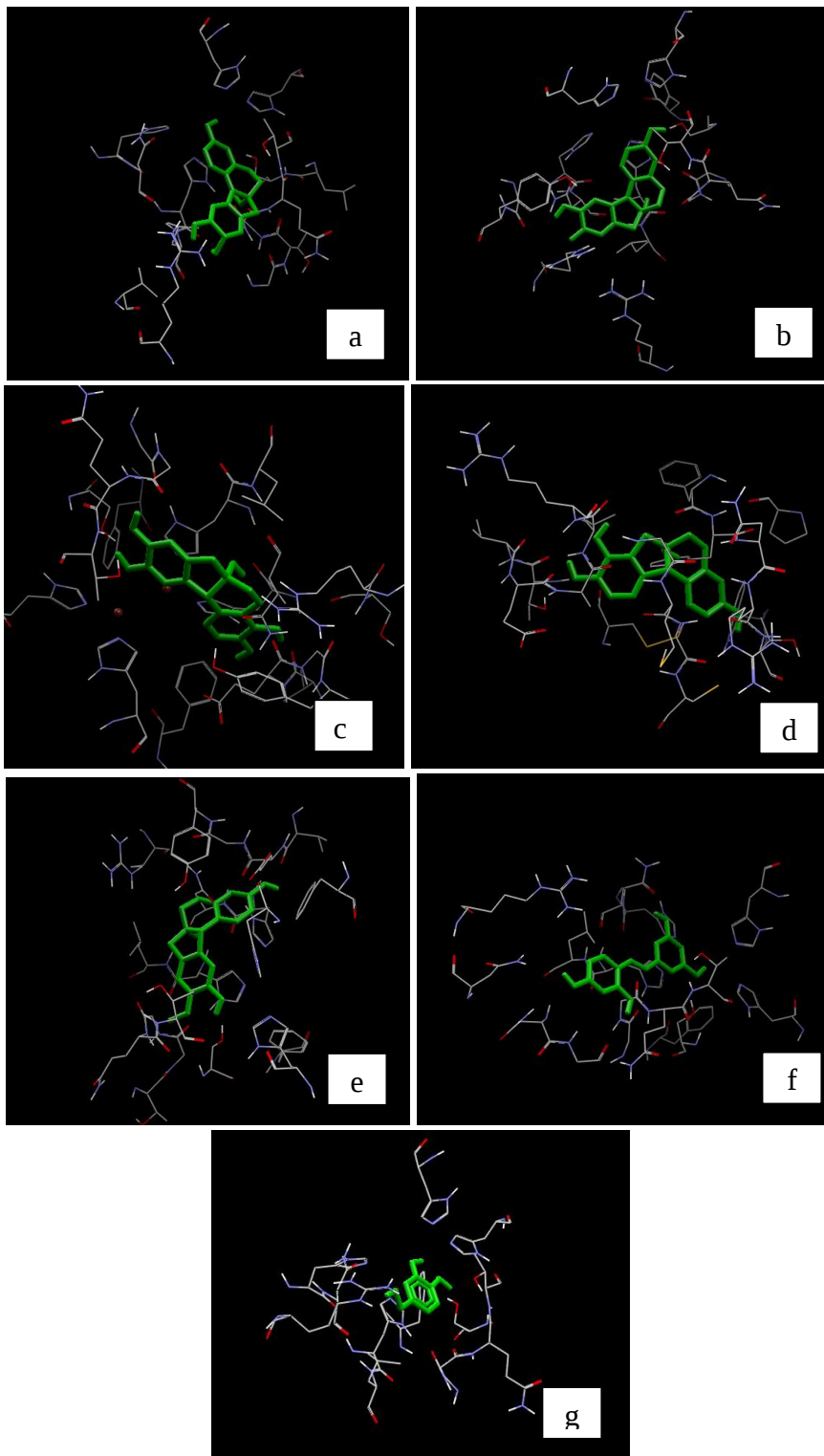
- 4) Ikatan hidrofobik senyawa brazilin (a), brazilein (b), *hematoxylin* (c), *caesalpinia*phenol E (d), 3'-O-methylbrazilin (e), oksiresveratrol (f) dan *native ligand* (g).



- 5) Ikatan elektrostatik senyawa brazilin (a), brazilein (b), *hematoxylin* (c), *caesalpinia*phenol E (d), 3'-O-methylbrazilin (e), oksiresveratrol (f) dan *native ligand* (g).



- 6) *Pose organizer* senyawa brazilin (a), brazilein (b), *hematoxylin* (c), *caesalpinia*phenol E (d), 3'-O-methylbrazilin (e), oksiresveratrol (f) dan *native ligand* (g).



- 7) *Secondary structure* (bentuk pita asam amino) senyawa brazilin (a), brazilein (b), *hematoxylin* (c), *caesalpinaphenol E* (d), *3'-O-methylbrazilin* (e), oksiresveratrol (f) dan *native ligand* (g).

