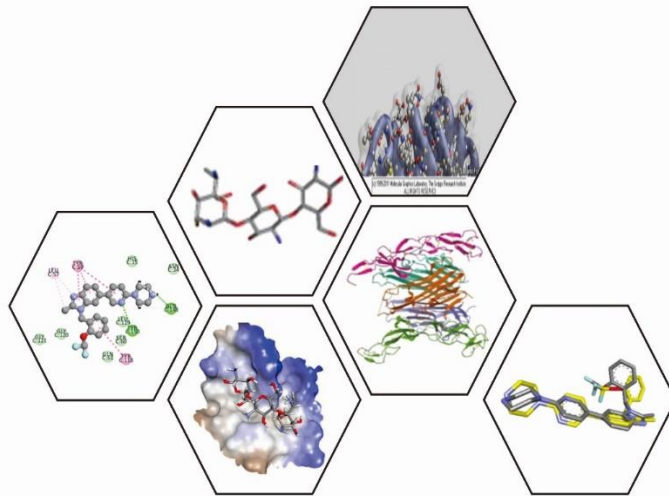


**STUDI IN SILICO SENYAWA DERIVAT KITOSAN TERHADAP TNF- $\alpha$ ,  
IL-1 $\beta$  DAN IL-1 $\alpha$  SEBAGAI KANDIDAT BAHAN  
TAMBAHAN *CAPPING AGENT***

**IN SILICO STUDY OF CHITOSAN DERIVATIVE COMPOUNDS  
AGAINST TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  AND IL-1 $\alpha$  AS CANDIDATE  
CAPPING AGENT ADDITIVES**



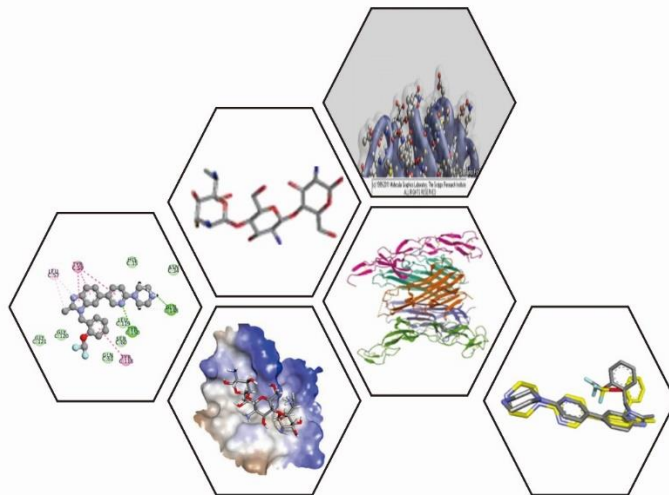
**THERESIA PASKAEDITH LODANG HURINT  
J025211004**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS  
PROGRAM STUDI KONSERVASI GIGI  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**STUDI IN SILICO SENYAWA DERIVAT KITOSAN TERHADAP TNF- $\alpha$ ,  
IL-1 $\beta$  DAN IL-1 $\alpha$  SEBAGAI KANDIDAT BAHAN  
TAMBAHAN *CAPPING AGENT***

**IN SILICO STUDY OF CHITOSAN DERIVATIVE COMPOUNDS  
AGAINST TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  AND IL-1 $\alpha$  AS CANDIDATE  
CAPPING AGENT ADDITIVES**



**THERESIA PASKAEDITH LODANG HURINT  
J025211004**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS  
PROGRAM STUDI KONSERVASI GIGI  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

***STUDI IN SILICO* SENYAWA DERIVAT KITOSAN TERHADAP TNF- $\alpha$ ,  
IL-1 $\beta$  DAN IL-1 $\alpha$  SEBAGAI KANDIDAT BAHAN  
TAMBAHAN *CAPPING AGENT***

**THERESIA PASKAEDITH LODANG HURINT  
J025211004**



**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS  
PROGRAM STUDI KONSERVASI GIGI  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**IN SILICO STUDY OF CHITOSAN DERIVATIVE COMPOUNDS  
AGAINST TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  AND IL-1 $\alpha$  AS CANDIDATE  
CAPPING AGENT ADDITIVES**

**THERESIA PASKAEDITH LODANG HURINT  
J025211004**



**CONSERVATIVE DENTISTRY SPECIALIST PROGRAM  
DEPARTMENT OF CONSERVATIVE DENTISTRY  
FACULTY OF DENTISTRY  
HASANUDDIN UNIVERSITY  
MAKASSAR  
2024**

***STUDI IN SILICO* SENYAWA DERIVAT KITOSAN TERHADAP TNF- $\alpha$ ,  
IL-1 $\beta$  DAN IL-1 $\alpha$  SEBAGAI KANDIDAT BAHAN  
TAMBAHAN *CAPPING AGENT***

Tesis

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar spesialis  
pada Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi  
disusun dan diajukan oleh

THERESIA PASKAEDITH LODANG HURINT  
J025211004

kepada

**PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER GIGI SPESIALIS  
PROGRAM STUDI KONSERVASI GIGI  
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2024**

**TESIS**

**STUDI IN SILICO SENYAWA DERIVAT KITOSAN TERHADAP TNF- $\alpha$ ,  
IL-1 $\beta$  DAN IL-1 $\alpha$  SEBAGAI KANDIDAT BAHAN  
TAMBAHAN CAPPING AGENT**

**THERESIA PASKAEDITH LODANG HURINT**

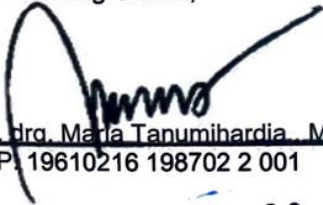
**J025211004**

telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Seminar Hasil PPDGS  
Konservasi Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin  
pada tanggal 4 Juni 2024 dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan  
pada

Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi  
Departemen Konservasi Gigi  
Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Hasanuddin  
Makassar

Mengesahkan:

Pembimbing Utama,



Dr. drg. Maria Tanumihardja, MDSc  
NIP. 19610216 198702 2 001

Pembimbing Pendamping,



drg. Nurhayaty Natsir, Ph.D., Sp.KG, Subsp.KR(K)  
NIP. 19640518 199103 2 001

Ketua Program Studi  
PPDGS Konservasi Gigi,



drg. Nurhayaty Natsir, Ph.D., Sp.KG, Subsp.KR(K)  
NIP. 19640518 199103 2 001

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Hasanuddin,



dr. Nizam Suciand, M. Med. Ed., Ph.D.  
NIP. 19810235 200801 1 009

## PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul “Studi *In Sillico* Senyawa Derivat Kitosan Terhadap TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  dan IL-1 $\alpha$  Sebagai Kandidat Bahan Tambahan *Capping Agent*” adalah benar karya saya dengan arahan dari tim pembimbing drg. Maria Tanumihardja., MSc sebagai Pembimbing Utama dan drg. Nurhaz Natsir, Ph.D, Sp.KG, Subsp. KR(K) sebagai Pembimbing Pendamping). Karya ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun ke perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini adalah karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut berdasarkan aturan yang berlaku.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta (hak ekonomis) dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 28 Juni 2024



Theresia Paskaedith Lodang Hurint  
NIM J025211004

## UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena hanya dengan berkat, kekuatan dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan tesis ini dengan judul “ Studi *In Sillico* Senyawa Derivat Kitosan Terhadap TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  dan IL-1 $\alpha$  Sebagai Kandidat Bahan Tambahan *Capping Agent* ”.

Pada kesempatan ini, penulis menyampaikan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada yang terhormat :

1. **drg. Irfan Sugianto, M.Med.Ed, Ph.D** sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin beserta seluruh pimpinan fakultas atas kesempatan yang diberikan untuk mengikuti Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi Universitas Hasanuddin Makassar.
2. **Dr. drg. Maria Tanumihardja, M.DSc** sebagai pembimbing I yang telah meluangkan waktu membimbing, mengarahkan dan memberi nasehat, pengertian dan dukungan kepada penulis dalam menyelesaikan penelitian dan menyusun tesis ini
3. **drg. Nurhayaty Natsir, Ph.D, Sp.KG,Subsp.KR(K)** sebagai pembimbing II sekaligus Ketua Program Studi Konservasi Gigi yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan tenaga dalam memberikan arahan, masukan serta dukungan untuk menyelesaikan penelitian ini.
4. **Prof. Yusnita Rifai, S.Si., M.Pharm., Ph.D., Apt** sebagai penguji eksternal yang telah bersedia memberikan bimbingan, saran dan koreksi terhadap hasil penelitian ini.
5. **drg. Wahyuni Sucu Dwiandhany, Ph.D., Sp.KG,SubSp KR(K)** sebagai dosen dan penguji yang telah bersedia memberikan bimbingan, saran dan koreksi terhadap hasil penelitian ini.
6. **drg. Noor Hikmah, M.KG., Sp.KG,Subsp. KE(K)** sebagai dosen dan penguji yang telah bersedia memberikan bimbingan, saran dan koreksi terhadap hasil penelitian ini.
7. **Dr. drg. Juni Jekti Nugroho, Sp.KG,Subsp.KE(K), drg. Aries Chandra Trilaksana, Sp.KG, Subsp.KE(K), drg. Christine Anastasia Rovani, Sp.KG, Subsp. KR(K), drg. Afniati Rachmuddin, Sp.KG, Dr. drg. Hafsa Katu, M. Kes, dan Prof. Dr. drg. Ardo Sabir, M.Kes** sebagai dosen yang memberikan ilmu, bimbingan, dan masukan selama Pendidikan Dokter Gigi Spesialis Konservasi Gigi.
8. Terkhusus kepada:
  - a. Ayah dan ibu tercinta, **Emanuel Hurint, SH** dan **Maria Tolentia Daba, S.Ag** atas segala cinta, dukungan doa dan moril kepada penulis selama menjalani proses pendidikan



- b. Saudara terkasih **Marina E. Ema Hurint**, **Genoveva Dian R. Hurint** dan **Antonius D. W Hurint** yang telah memberikan dukungan doa dan moril selama penulis menjalani proses pendidikan.
9. Teman-teman residen Konservasi Gigi Angkatan 13 (2021.1) Dwi Puji Lestari, A. Ghina Zakiyah NZ, Rosida Indriyatmi, Irfan Fauzy Yamin, Sulastri dan Jade M Lolong atas kekompakan, kebersamaan, suka dan duka, selalu membantu, mendukung dan memberi semangat serta motivasi selama menempuh pendidikan.
10. Residen konservasi gigi angkatan 10 (2019), angkatan 11 (2020.1), angkatan 12 (2020.2), angkatan 14 (2021.2), angkatan 15 (2022.1), angkatan 16 (2022.2), angkatan 17 (2023.1), dan angkatan 18 (2023.2). Terima kasih untuk kebersamaan, kekompakan, dan kerja samanya.

Akhir kata, dengan penuh kesadaran dan kerendahan hati penulis mengucapkan terima kasih yang setulus-tulusnya serta penghargaan kepada semua pihak yang telah berperan dalam penyusunan tesis ini yang tidak sempat penulis sebutkan satu persatu dan semoga Tuhan Yang Maha Esa selalu melimpahkan rahmat, kasih dan karunia-Nya kepada kita semua dan berkenan menjadikan tesis ini bermanfaat.

Makassar, 28 Juni 2024



Theresia Paskadith Lodang Hurint

## ABSTRAK

THERESIA PASKAEDITH LODANG HURINT. **Studi *In Silico* Senyawa Derivat Kitosan Terhadap TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  dan IL-1 $\alpha$  Sebagai Kandidat Bahan Tambahan *Capping Agent*** (dibimbing oleh Maria Tanumihardja dan Nurhayaty Natsir).

**Pendahuluan.** Kalsium hidroksida merupakan *capping agent* yang telah lama digunakan dalam kedokteran gigi untuk mengobati pulpa yang meradang karena dapat menstimulasi pembentukan dentin reparatif, namun peradangan yang berkepanjangan dapat menyebabkan nekrosis. Kitosan adalah bahan alami dengan berbagai potensi, termasuk antibakteri, antiinflamasi, dan antioksidan. Salah satu potensi tersebut adalah efek antiinflamasi, yang dapat digunakan sebagai bahan tambahan untuk *capping agent*. Namun, karakteristik antiinflamasinya belum sepenuhnya dipahami. Studi *in silico* adalah teknik komputasi yang dapat digunakan untuk mengamati karakteristik suatu senyawa. **Tujuan.** Menganalisis berbagai senyawa turunan kitosan yang memiliki potensi antiinflamasi terhadap tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), dan interleukin-1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ) melalui studi *in silico*. **Metode.** Penelitian ini merupakan penelitian *in silico* dengan mencari struktur metabolit sekunder turunan kitosan dari studi literatur dan situs PubChem serta mencari reseptor melalui bank data protein. Simulasi *docking* molekul ligan-reseptor menggunakan aplikasi autodock dengan menilai energi ikat antara senyawa turunan kitosan terhadap TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , dan IL-1 $\alpha$ . **Hasil.** Dari 18 senyawa derivat kitosan yang di *docking*, terdapat 6 senyawa yang menunjukkan energi ikat terbaik terhadap reseptor TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , dan IL-1 $\alpha$ , seperti Dimethylaminoethyl Chitosan, Palmitoyl-Trimethyl-Chitosan, Amino-chitosan, dan beta-D glukosaminil-(1->4)-beta-D-glukosamin, Aminoethyl-Chitosan, dan Seleno-chitosan, dengan rentang energi ikat berkisar antara -4,1 kkal/mol hingga -8,38 kkal/mol. **Simpulan.** Enam senyawa derivat kitosan dapat digunakan sebagai agen antiinflamasi, dan berpotensi menjadi kandidat bahan tambahan *capping agent*.

**Kata Kunci:** studi *in silico*, derivat kitosan, antiinflamasi, *capping agent*, kalsium hidroksida.

## ABSTRACT

THERESIA PASKAEDITH LODANG HURINT. *In Silico Study of Chitosan Derivate Compounds Against TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-1 $\alpha$  as Candidate Capping Agent Additives* (supervised by Maria Tanumihardja and Nurhayaty Natsir).

**Introduction.** Calcium hydroxide is a capping agent that has long been used in dentistry to treat inflamed pulp because it can stimulate the formation of reparative dentin, but prolonged inflammation can lead to necrosis. Chitosan is a natural material with a wide range of potentials, including antibacterial, anti-inflammatory, and antioxidant. One such potential is its anti-inflammatory effect, which can be used as an additive for capping agents. However, its anti-inflammatory characteristics are not fully understood. *In silico* study is a computational technique that can be used to observe the characteristics of a compound. This study aims to analyze various chitosan derivative compounds that have anti-inflammatory potential against tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), and interleukin-1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ) through *in-silico* studies. **Objective.** To analyzing various chitosan-derived compounds that have anti-inflammatory potential against tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), and interleukin-1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ) through *in silico* studies. **Methods.** This research is *in silico* research by searching for secondary metabolite structures of chitosan derivatives from literature studies and the PubChem website and searching for receptors through protein data banks. Molecular docking simulation of ligand-receptor using autodock application by assessing the binding energy between chitosan derivative compounds against TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , and IL-1 $\alpha$ . **Results.** The results of 18 chitosan-derived compounds docked, there are 6 compounds that show the best binding energy to TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , and IL-1 $\alpha$  receptors, such as Dimethylaminoethyl Chitosan, Palmitoyl-Trimethyl-Chitosan, Amino-chitosan, beta-D glucosaminy-(1->4)-beta-D-glucosamine, Aminoethyl-Chitosan, and Seleno-chitosan, with binding energy ranges from -4.1 kcal/mol to -8.38 kcal/mol. **Conclusion.** Six chitosan-derived compounds can be used as anti-inflammatory agents, and are potential candidates for capping agent additives.

**Keywords:** *in silico* study, chitosan derivatives, anti-inflammatory, capping agents, calcium hydroxide.

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL .....	ii
PERNYATAAN PENGAJUAN .....	v
HALAMAN PENGESAHAN .....	vi
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS .....	vii
UCAPAN TERIMA KASIH .....	vii
ABSTRAK .....	x
DAFTAR ISI .....	xii
DAFTAR TABEL .....	xiii
DAFTAR GAMBAR .....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
DAFTAR SINGKATAN.....	xvi
BAB I. PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian .....	3
BAB II. METODE PENELITIAN .....	5
2.1 Tempat dan Waktu .....	5
2.2 Alat dan Bahan.....	5
2.3 Metode Penelitian .....	10
2.4 Parameter Pengamatan.....	11
2.5 Pelaksanaan Penelitian.....	12
BAB III. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	14
3.1 Hasil Penelitian .....	14
3.2 Pembahasan .....	21
BAB IV. KESIMPULAN DAN SARAN .....	25
4.1 Kesimpulan .....	25
4.2 Saran .....	25
DAFTAR PUSTAKA.....	26
LAMPIRAN.....	30

## DAFTAR TABEL

Nomor urut	Halaman
2.1 18 Senyawa Derivat Kitosan .....	7
3.1 Validasi <i>redocking native ligand</i> terhadap reseptor TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , dan IL-1 $\alpha$ .....	14
3.2 Hasil <i>docking</i> Energi Pengikatan senyawa menggunakan AutoDock Tools 1.5.6. ....	15
3.3 Interaksi residu asam amino ligan uji dengan reseptor <i>TNF-<math>\alpha</math></i> .....	16
3.4 Interaksi residu asam amino ligan uji dengan reseptor IL-1 $\beta$ .....	17
3.5 Interaksi residu asam amino ligan uji dengan reseptor IL-1 $\alpha$ .....	18
3.6 Hasil prediksi sifat fisikokimia senyawa menggunakan <i>pkCSM Online Tool</i> dan <i>SwissADME</i> .....	19
3.7 Hasil prediksi toksisitas senyawa menggunakan <i>pkCSM Online Tool</i> .....	20

## DAFTAR GAMBAR

Nomor urut	Halaman
2.1 Tampilan Website PDB .....	5
2.2 Tampilan Website PubChem .....	5
2.3 Aplikasi pyrx.....	6
2.4 Aplikasi Autodock.....	6
2.5 Aplikasi Biovia Discovery Studio .....	6
2.6 Tampilan Website pkCSM .....	6
2.7 Tampilan Website Prottox Online Tool.....	7
2.8 Reseptor TNF- $\alpha$ dengan PDB ID 7KP8 .....	10
2.9 Reseptor IL-1 $\beta$ dengan PDB ID 5R8O .....	10
2.10 Reseptor IL-1 $\alpha$ , dengan PDB ID 1IRA .....	10
3.1 Bentuk Overlay Konformasi awal ( abu-abu ) dan konformasi setelah dilakukan simulasi penambatan ulang molekul (kuning,biru) senyawa native ligand.....	14
3.2 Interaksi 2D Jenis Interaksi Residu Asam Amino, Native ligand, dengan Dimethylaminoethyl Chitosan, Aminoethyl-Chitosan dan Palmitoyl-Trimethyl- Chitosan, diamati menggunakan software biovia discovery studio .....	16
3.3 Interaksi 2D Residu Asam Amino, Native ligand, Amino-chitosan dan beta-D glucosaminyl-(1->4)-beta-D-glucosamine.....	17
3.4 Interaksi 2D Residu Asam Amino, Native ligand, Amino-chitosan, beta-D glucosaminyl-(1->4)-beta-D-glucosamine, Seleno-chitosan.....	18

## DAFTAR LAMPIRAN

Nomor urut	Halaman
1. Surat Izin Penelitian .....	30
2. Surat Rekomendasi Persetujuan Komite Etik Penelitian .....	31
3. Dokumentasi Penelitian .....	32
4. Riwayat Hidup Penulis .....	34

## DAFTAR SINGKATAN

Lambang/ singkatan	Arti dan penjelasan
TNF- $\alpha$	Tumor Necrosis Factor- $\alpha$
IL-1 $\beta$	Interleukin-1 $\beta$
IL- 1 $\alpha$	Interleukin-1 $\alpha$
KH	Kalsium hidroksida
MTA	mineral trioxide aggregate
BDGE	butanediol diglycidyl ether
PDB	Protein Data Bank
ADMET	Analisis Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Eliminasi, dan Toksisitas
RMSD	Root Mean Square Deviation
RO5	Lipinsk'si Rule of Five
T.E.S.T	Toxicity Estimation Software Tool



# BAB I PENDAHULUAN

## 1.1 Latar Belakang

Pulpa gigi merupakan jaringan vital dalam struktur jaringan keras gigi yang berperan penting dalam proses nutrisi, sensitivitas, formatif dan proteksi gigi. Pulpa gigi mengandung pembuluh darah dan saraf yang memberikan nutrisi dan oksigen ke sel-sel gigi namun seperti jaringan tubuh lainnya, pulpa juga rentan terhadap cedera, seperti cedera fisik, mekanik, termal dan biologik (Hegde dan Battepati, 2010). Cedera fisik umumnya terjadi secara iatrogenik pada saat '*caries removal*' atau preparasi kavitas, dan trauma fisik akibat kecelakaan yang menyebabkan terbukanya pulpa. Material *capping agent* merupakan bahan biokompatibel yang digunakan untuk melindungi dan menutupi pulpa terbuka dengan harapan pulpa dapat sembuh secara normal serta mempertahankan vitalitasnya sehingga mencegah kebutuhan akan perawatan saluran akar yang lebih luas dan mahal (Tahira *et al.*, 2018).

Material *capping agent* yang sering digunakan yaitu MTA dan kalsium hidroksida. MTA memiliki tingkat biokompatibilitas yang tinggi dan mampu menutup permukaan gigi secara efektif untuk mencegah penetrasi bakteri, akan tetapi harganya relatif mahal dibandingkan kalsium hidroksida dan manipulasinya lebih sulit (Hilton *et al.*, 2013). Kalsium hidroksida (KH) memiliki beberapa kelebihan seperti kemampuan anti bakteri, osteoinduktif, ekonomis dan mudah diperoleh, akan tetapi kalsium hidroksida (KH) memiliki sifat alkalis kuat yang dapat menyebabkan kematian sel pejamu (Gong dan França, 2017), mudah larut, kemampuan adhesi dan *seal* yang rendah, pembentukan dentin reparatif yang porous (*tunnel defect*), yang dapat menjadi jalan masuk bakteri ke dalam pulpa sehingga proses inflamasi berlangsung lebih lama (da Rosa *et al.*, 2018; Islamet *et al.*, 2023).

Untuk mengatasi cedera yang timbul, pulpa melaksanakan tugas protektifnya dengan melepaskan berbagai mediator inflamatori untuk memperbaiki kerusakan yang terjadi dan membentuk sel-sel baru. Beberapa mediator proinflamatori yang berperan penting dalam koordinasi inflamasi diantaranya adalah sitokin *tumor necrosis factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ), *interleukin-1 $\beta$*  (IL-1 $\beta$ ) dan *interleukin-1 $\alpha$*  (IL-1 $\alpha$ ). TNF- $\alpha$  biasanya diproduksi bersamaan dengan interleukin yang menyebabkan perubahan vaskular dan seluler (Meyer, 2003) sebagai respons cepat terhadap cedera dan infeksi bakteri. Sitokin tersebut memodulasi sinyal proinflamasi dengan mengaktifkan berbagai komponen yang ada dalam sistem imun alami, meningkatkan ekspresi kemokin dan molekul adhesi yang penting untuk perekrutan neutrofil dan makrofag. Menurut Reyes-Carmona *et al.* (2011), KH yang diaplikasikan secara *in vitro* pada pulpa yangterinflamasi, menginduksi peningkatan regulasi sitokin proinflamasi.

Berbagai penelitian dilakukan untuk mendapatkan alternatif material '*capping agent*' atau menambahkan material pendukung seperti sediaan kimia atau bahan

alami kedalam KH untuk meningkatkan efektifitasnya dengan sifat biologik dan fisik yang lebih baik. Indonesia sebagai negara maritim dengan luas lautan yang lebih besar dari luas daratannya memiliki sumber daya laut berlimpah yang bisa dikembangkan dan dimanfaatkan dalam bidang kesehatan, dan salah satunya adalah krustasea. Kitosan merupakan senyawa organik turunan dari kitin yang paling terkenal dari krustasea, merupakan produk sampingan melimpah dari industri pengolahan makanan, yang menyediakan biopolimer dalam jumlah besar untuk digunakan dalam aplikasi biomedis (Sukamto, 2017; Dutta *et al.*, 2004; Rochima, 2007). Senyawa kitosan memiliki sifat-sifat menguntungkan seperti biokompatibel, non-toksik, antibakteri dan antiinflamasi (Abd El-Hack *et al.*, 2020; Ezoddini-Ardakani *et al.*, 2012).

Penelitian kitosan dalam bidang kedokteran gigi sebagai bahan irigasi saluran akar menunjukkan konsentrasi 0,2% kitosan lebih efektif mengangkat *smear layer* dibandingkan 17% EDTA pada 1/3 apikal saluran akar (Kamble *et al.*, 2017). Gani *et al* (2022) menyatakan bahwa kombinasi gel kitosan dan hidroksiapatit dari limbah cangkang rajungan (*Portunus pelagicus*) dapat merenegenerasi jaringan periodontal dengan menghambat produksi sitokin pro inflamasi IL-1 dan meningkatkan BMP-2. Penelitian lain yang dilakukan Achmad, *et al* (2020) melaporkan bahwa kitosan dapat menghambat produksi sitokin pro-inflamasi, seperti TNF- $\alpha$  dan IL-6, dan kitosan dari sisik bandeng memiliki efek anti-inflamasi dengan menurunkan kadar IL-6 awal, memperpendek proses peradangan, dan mempercepat tahap proliferasi dan *remodeling* (Mansyur, 2022).

Penelitian yang dilakukan Subhi *et al*, (2018), menyatakan bahan gipsium yang dikombinasikan dengan kitosan secara langsung mampu meningkatkan viabilitas sel dan mempercepat penyembuhan luka tanpa efek sitotoksik. Disamping itu fase gelasi yang cepat, sifat mekanik yang meningkat dan biokompatibel menjadi kriteria penting untuk bisa dikembangkan sebagai *capping agent*. Studi yang dilaporkan Osmond *et al*, (2019), menunjukkan potensi gabungan salah satu senyawa aktif turunan kitosan yaitu karboksimetil-kitosan dengan hidroksiapatit dan bahan ikatan silang 1,4-*butanediol diglycidyl ether* (BDGE) sebagai generasi baru *regenerative capping agent* akan tetapi mekanisme kerjanya belum dipahami dengan baik.

Uraian di atas menunjukkan kitosan dapat juga dijadikan kandidat yang baik untuk digabungkan dengan KH sebagai bahan *capping agent*, akan tetapi penelusuran awal yang dilakukan dengan data literatur dan pada *Protein Data Bank* (PDBG), kitosan memiliki sekitar 18 derivat aktif lainnya yang memiliki kemungkinan untuk dapat digabungkan dengan KH, antara lain *CarboxymethylChitosan*, *Glycol Chitosan*, *N-acetyl-D glucosamine*, *Aminoethyl- Chitosan*, *Dimethylaminoethyl Chitosan*, *Diethylaminoethyl Chitosan*, *Palmitoyl-Trimethyl- Chitosan*, *N-Succinyl Chitosan*, *Chitosan- trifluoroacetate*, *D-Glucosaminide*, *beta-D glucosaminyl-(1- >4)-beta-D- glucosamine*, *Chitosan malate*, *Seleno-chitosan*, *Cinnamyl-chitosan*, *hydroxybutyl-chitosan*, *O-hydroxyethyl-chitosan* dan *Amino-chitosan*.

*Studi in silico* merupakan salah satu tehnik komputasi yang dapat digunakan untuk memprediksi bioaktivitas suatu senyawa (yang bertindak sebagai ligand)

dengan molekul target (sebagai reseptor) sebelum dilakukan uji eksperimental pada hewan coba melalui evaluasi jenis ikatan, afinitas ikatan dan jarak ikatan antara ligand dan reseptornya (Dona *et al.*, 2019). Metode ini dapat memberikan informasi senyawa derivat paling aktif yang dapat digunakan sebagai kandidat senyawa dalam pemanfaatannya dalam aplikasi biomedis. Metode ini memiliki kelebihan antara lain mengurangi penggunaan peralatan dan bahan yang berlebihan serta menghemat biaya eksperimental dan mengurangi penggunaan hewan uji (Carvalho *et al.*, 2020).

Penelitian yang dilakukan oleh Passini *et al.*, (2017) melaporkan uji coba obat secara *in silico* menunjukkan akurasi lebih tinggi dibandingkan pada hewan dalam memprediksi *pro-arrhythmic cardiotoxicity*. Studi *in silico* lainnya terhadap senyawa metabolit sekunder multifidanol, multifidenol, multidione, multifolone, dan yang ada pada terpenoid getah jarak cina menunjukkan potensinya sebagai antivirus Covid-19, namun belum dilakukan penelitian lebih lanjut secara *in vivo* (Malihasisna *et al.*, 2022).

Paparan di atas menunjukkan perlu dilakukan uji awal melalui studi *in silico* untuk meneliti efek berbagai senyawa derivat kitosan (sebagai *ligandnya*) dengan aplikasi *docking* terhadap parameter mediator inflamasi TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  dan IL-1 $\alpha$  sebagai reseptornya karena mediator-mediator ini erat dikaitkan dengan inflamasi yang terjadi setelah pemberian kalsium hidroksid.

## 1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka permasalahan yang dapat dirumuskan adalah bagaimana interaksi berbagai senyawa derivat kitosan sebagai kandidat bahan tambahan *capping agent* terhadap IL- TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  dan IL-1 $\alpha$  secara *in silico*?

## 1.3 Tujuan dan Manfaat Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Penelitian

#### Tujuan Umum

Mengetahui interaksi berbagai senyawa derivat kitosan sebagai kandidat bahan tambahan *capping agent* dengan TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  dan IL-1 $\alpha$  secara *in silico*.

#### Tujuan Khusus

1. Mengamati jenis interaksi dari hasil *docking* TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  dan IL-1 $\alpha$  terhadap senyawa derivat kitosan menggunakan studi *in silico*.
2. Mengevaluasi jarak ikatan dari hasil *docking* TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  dan IL-1 $\alpha$  terhadap senyawa derivat kitosan menggunakan studi *in silico*.
3. Mengevaluasi *binding affinity* ikatan dari hasil TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  dan IL-1 $\alpha$  terhadap senyawa derivat kitosan menggunakan studi *in silico*.

### 1.3.2 Manfaat Penelitian

#### **Manfaat Umum**

Dapat memberikan rujukan referensi dan pengetahuan mengenai studi *in silico* senyawa derivat kitosan terhadap TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  dan IL-1 $\alpha$  sebagai kandidat bahan tambahan *capping agent*.

#### **Manfaat Khusus**

Dapat memberikan informasi bagi dokter gigi dan dokter gigi spesialis konservasi gigi pada khususnya mengenai pemanfaatan senyawa derivat kitosan sebagai bahan tambahan *capping agent*

## BAB II METODE PENELITIAN

### 2.1 Tempat dan Waktu

#### 2.1.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanuddin dan Laboratorium Farmasi Poltekkes Kemenkes Makassar.

#### 2.1.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari – Februari 2024

### 2.2 Alat dan Bahan

#### 2.2.1 Alat Penelitian

##### Perangkat Keras

Perangkat keras yang digunakan dalam penelitian ini adalah Laptop dan sistem operasi *Windows* 10. Laptop terhubung dengan jaringan internet.

##### Perangkat Lunak

Perangkat lunak yang digunakan dalam penelitian ini yaitu:

1. *Website Protein Data Bank (PDB)*

(<https://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>) untuk mendownload data protein



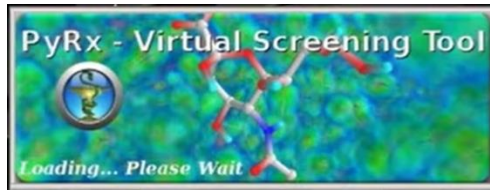
Gambar 2.1 Tampilan *Website* PDB

2. *Website Pubchem* yang merupakan arsip terbuka berisi informasi berbagai entitas kimia termasuk molekul kecil, karbohidrat, lipid dan asam amino.



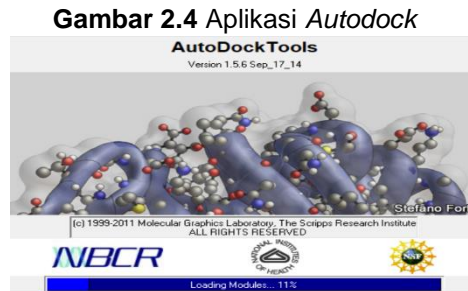
Gambar 2.2 Tampilan *Website* PubChem

3. Aplikasi *PyRx* digunakan untuk preparasi ligan



Gambar 2.3 Aplikasi *pyrx*

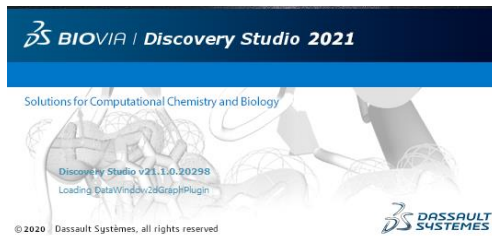
4. Aplikasi *Autodock* untuk melakukan *docking* ligan dan reseptor



Gambar 2.4 Aplikasi *Autodock*

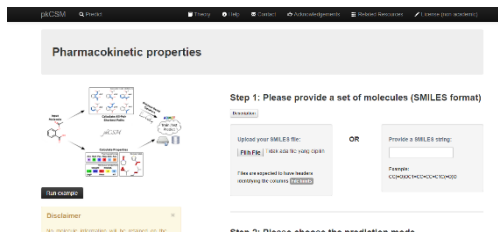
5. Aplikasi *Biovia Discovery Studio V21.1.0.20298* untuk melakukan pengeditan ligan dan reseptor yang telah dilakukan *docking*.

Gambar 2.5 Aplikasi *Biovia Discovery Studio*



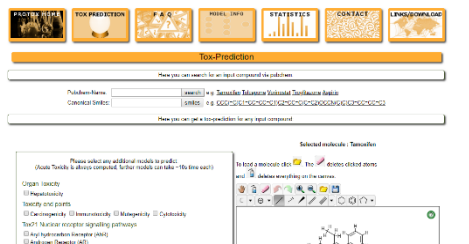
6. *Website* pkCSM untuk melakukan prediksi ADMET

Gambar 2.6 Tampilan *Website* pkCSM



## 7. Website *Prottox Online Tool* untuk prediksi Toksisitas

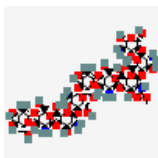
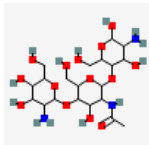
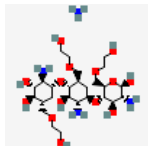

**Gambar 2.7** Tampilan Website Prottox Online Tool


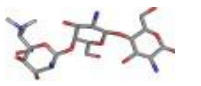
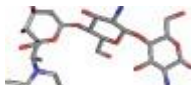

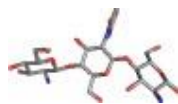
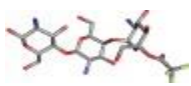
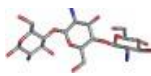
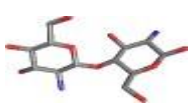


### 2.2.2 Bahan Penelitian

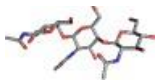
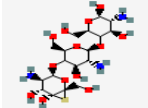
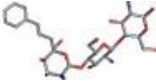
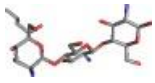
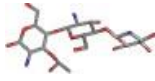
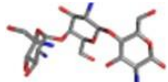
Bahan yang akan diujikan dalam penelitian ini adalah senyawa derivat kitosan Senyawa Derivat Kitosan (Ligan)

**Tabel 2.1** 18 Senyawa Derivat Kitosan

No.	Nama	Gambaran2D/3D	Formula	Sumber
1	<i>Chitosan</i>		C56H103N9O39	<i>PubChem</i>
2	<i>Carboxymethyl Chitosan</i>		C20H37N3O14	<i>PubChem</i>
3	<i>Glycol Chitosan</i>		C26H54N4O14	<i>PubChem</i>
4	<i>N-acetyl-D glucosamine</i>		C8H15N4O6	<i>PubChem</i>

No.	Nama	Gambaran2D/3D	Formula	Sumber
5	<i>Aminoethyl-Chitosan</i>		$C_{20}H_{40}N_4O_{13}$	<i>PubChem</i>
6	<i>Dimethylaminoethyl Chitosan</i>		$C_{22}H_{44}N_4O_{13}$	<i>PubChem</i>
7	<i>Diethylaminoethyl Chitosan</i>		$C_{24}H_{48}N_4O_{13}$	<i>PubChem</i>
8	<i>Palmitoyl-Trimethyl-Chitosan</i>		$C_{37}H_{71}N_3O_{14}$	<i>PubChem</i>
9	<i>N-Succinyl Chitosan</i>		$C_{22}H_{37}N_3O_{15}$	<i>PubChem</i>
10	<i>Chitosan-trifluoroacetate</i>		$C_{20}H_{34}F_3N_3O_{15}$	<i>PubChem</i>
11	<i>D-Glucosaminide</i>		$C_{18}H_{35}N_3O_{13}$	<i>PubChem</i>
12	<i>beta-D glucosaminy-(1-&gt;4)-beta-D-glucosamine</i>		$C_{12}H_{24}N_2O_9$	<i>PubChem</i>



No.	Nama	Gambaran2D/3D	Formula	Sumber
13	<i>Chitosan malate</i>		$C_{28}H_{47}N_3O_{21}$	PubChem
14	<i>Seleno-chitosan</i>		$C_{18}H_{33}N_3O_{13}Se$	PubChem
15	<i>Cinnamyl-chitosan</i>		$C_{27}H_{43}N_3O_{13}$	PubChem
16	<i>hydroxybutyl-chitosan</i>		$C_{22}H_{43}N_3O_{14}$	PubChem
17	<i>O-hydroxyethyl-chitosan</i>		$C_{20}H_{39}N_3O_{14}$	PubChem
18	<i>Amino-chitosan</i>		$C_{18}H_{36}N_4O_{13}$	PubChem

### Reseptor Target

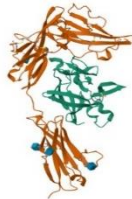
Reseptor yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: Struktur tiga dimensi dari reseptor *Tumor Necrosis Factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ) (PDB ID:7KP8), *Interleukin 1 beta* (IL-1 $\beta$ ) (PDB ID:5R8O) dan *Interleukin 1 alpha* (IL-1 $\alpha$ ) (PDB ID:1IRA), yang berfungsi sebagai protein target diperoleh dari laman PDB ID <https://www.rcsb.org/pdb>

Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), yang datanya diperoleh dari Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb/>).



**Gambar 2.8** Reseptor TNF- $\alpha$  dengan PDB ID 7KP8

Interleukin 1 $\beta$ , yang datanya diperoleh dari Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb/>)



**Gambar 2.9** Reseptor IL-1 $\beta$  dengan PDB ID 5R80

Interleukin 1 $\alpha$ , yang datanya diperoleh dari Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb/>)



**Gambar 2.10** Reseptor IL-1 $\alpha$ , dengan PDB ID 1IRA

### 2.3 Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental yang dilakukan dengan metode *in silico* sistem komputasi untuk menguji efektivitas variabel-variabel eksperimen dengan bantuan sistem komputer. Penelitian dilakukan menggunakan analisis *molecular docking* dari interaksi reseptor (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ ), dan ligan dari metabolit sekunder kitosan yang didapatkan dari *website Protein Data Bank* (PDB) ID dan *pubchem*. Struktur metabolit sekunder kitosan diperoleh melalui studi literatur dan *website PubChem*. Struktur 3D reseptor dan ligan dipreparasi menggunakan perangkat lunak *AutoDock tools 1.5.6* dan *Pyrx*, kemudian dilakukan simulasi *molecular docking* ligan-reseptor dengan *Discovery Studio*. Data energi ikatan (afinitas) dan interaksi ligan-reseptor diprediksi dengan ADMET.

## 2.4 Parameter Pengamatan

Penelitian melakukan beberapa tahapan kegiatan dengan parameter tertentu, yaitu:

### 1. Validasi metode *docking*

Pada proses validasi metode *docking* ini, dilakukan *redocking native ligand* terhadap reseptornya. Parameter yang diamati pada proses ini adalah nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*). Metode *docking* dikatakan valid jika memiliki nilai RMSD  $\leq 2 \text{ \AA}$ . Jika nilai RMSD yang diperoleh lebih besar dari 2  $\text{\AA}$  maka metode yang digunakan tidak valid (Frengki *et al.*, 2013).

### 2. Hasil *docking* metabolit sekunder

Parameter yang diamati dalam proses *docking* adalah *free energy of binding dengan satuan Kcal/mol*. Semakin rendah energi pengikatan antara ligan dan reseptor, semakin stabil ikatannya (Rizky, 2020).

### 3. Hasil Visualisasi *Molecular Docking* dengan *Discovery Studio 2017 R2 Client*

Parameter yang diobservasi dalam eksperimen ini adalah kesesuaian antara residu asam amino dan jenis ikatan yang dibentuk antara ligan dan reseptor. Interaksi antara ligan uji dengan residu asam amino dan jenis ikatan yang mirip dengan ligan asli menunjukkan adanya kesamaan aktivitas, yang disebabkan oleh interaksi yang serupa. Visualisasi hasil *docking* molekuler dilakukan menggunakan *Discovery Studio* (Rizky, 2020).

### 4. Hasil Prediksi Nilai Parameter Farmakokinetik Senyawa Bioaktif Kitosan dan prediksi sifat fisikokimia berdasarkan aturan *Lipinski's Rule of Five* (RO5).

Aturan lipinski mengacu pada pemberian obat secara oral yang berkaitan dengan proses absorpsi dan distribusi obat. *Lipinski's Rule of Five* memiliki persyaratan yang terdiri dari berat molekul tidak boleh di atas 500 g/mol, nilai koefisien partisi (logP) tidak lebih dari 5, jumlah ikatan donor dan ikatan hidrogen harus kurang dari 5 dan akseptor ikatan hidrogen harus kurang dari 10. Senyawa uji dikatakan memenuhi persyaratan untuk dijadikan sediaan oral jika tidak lebih dari satu pelanggaran terhadap aturan *Lipinski* RO5 (Lipinski, 2004). Peningkatan berat molekul berhubungan dengan bioavailabilitas yang buruk, fraksi yang diserap buruk, fraksi terikat lebih tinggi dan pembersihan ginjal buruk (Sakaeda *et al.*, 2001). Nilai logP suatu senyawa bervariasi antara -0,56 hingga 4,29, semakin besar nilai Log P maka hidrofilitas senyawa tersebut semakin berkurang, hal ini menunjukkan rendahnya bioavailabilitas (Singh, 2016).

### 5. Prediksi Profil ADMET

Analisis *Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Eliminasi, dan Toksisitas* (ADMET) merupakan hal yang penting dalam penemuan dan pengembangan obat. Parameter ini diuji menggunakan *Software* berbasis web, yaitu *SwissADME* (<http://www.swissadme.ch>) atau *website PkCSM*. Beberapa dari senyawa yang tidak memiliki informasi di *PubChem* diprediksi menggunakan metode konsensus dalam *Toxicity Estimation Software Tool* (T.E.S.T).

## 2.5 Pelaksanaan Penelitian

### 2.5.1 Persiapan Ligan

#### Pengunduhan Ligan

Penelitian ini menggunakan teknik *molecular docking*. Ligan yang digunakan adalah senyawa derivat kitosan yang diperoleh dari data hasil studi literatur dan diunduh dari *website PubChem* ID sesuai senyawa yang akan dilakukan *docking*. Diunduh dengan format *.sdf*, yang diperoleh dari <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> dan disimpan pada folder tersendiri yang telah dibuat untuk memudahkan saat melakukan *docking*.

#### Preparasi Ligan

Preparasi ligan dilakukan untuk mempersiapkan ligan sebelum dilakukan *docking*. Preparasi menggunakan aplikasi perangkat lunak *AutoDock tools 1.5.6* dan *Pyrx*.

### 2.5.2 Persiapan Reseptor

#### Pengunduhan Reseptor

Diunduh dari *Protein Data Bank* dengan alamat situs (PDB) (<http://www.rcsb.org/pdb/>). Penelitian ini menggunakan TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$  sebagai reseptor dengan identitas makromolekul PDB ID diunduh dalam format *pdb*.

#### Preparasi Reseptor

Preparasi protein target menggunakan perangkat lunak *AutoDock tools 1.5.6* dengan cara memprotonasi dan menentukan koordinat dari protein target, disimpan dalam format *pdbqt*.

### 2.5.3 Molecular Docking

*Molecular docking* adalah prosedur komputasional yang dapat digunakan untuk memprediksi ikatan kimia dari makromolekul (reseptor) dengan sebuah molekul kecil (ligan) secara efisien menggunakan strukturnya melalui simulasi *molecular docking*. Tujuan dilakukannya penambatan (*docking*) adalah untuk mengetahui konformasi dan energi bebas ikatan yang terlibat dalam interaksi antara reseptor dan ligan (Frimayati *et al.*, 2021). *Docking* molekul senyawa derivat kitosan dilakukan dengan menggunakan *docking Autodock*.

### 2.5.4 Fungsi Penilaian (Skor)

Penilaian dalam penelitian ini berupa penilaian terhadap *Root Mean Square Deviation* (RMSD) dengan satuan amstrong (A), energi ikatan dalam satuan Kcal/mol.

### 2.5.5 Validasi Metode Docking

Tujuan validasi *docking* untuk memastikan bahwa orientasi ligan dan posisi yang diperoleh dari studi *docking* bernilai valid dimana nilai RMSD  $\leq 2 \text{ \AA}$ .

### 2.5.6 Visualisasi Hasil Docking

Visualisasi hasil docking dilakukan untuk melihat interaksi yang terjadi berdasarkan pada hasil docking antara senyawa derivat kitosan dengan TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-1 $\alpha$ . Analisis data dilakukan menggunakan aplikasi Biovia *Discovery Studio* dengan memperhatikan hasil tersebut. Penentuan konformasi ligan hasil *docking* dilakukan dengan memilih konformasi ligan yang mempunyai afinitas ikatan yang paling rendah dengan pose terbaik kemudian dianalisa menggunakan Biovia *Discovery Studio*. Selanjutnya hasil penelitian akan ditampilkan dalam bentuk tabulasi dan ilustrasi tiga dimensi, serta dijelaskan secara naratif.

### 2.5.7 Drug Likeness dan Profil ADMET

Pemeriksaan parameter ini dilakukan dengan menggunakan *Software* berbasis *website* yaitu *SwissADME* (<http://www.swissadme.ch>) atau *website PkCSM*. Beberapa dari senyawa yang tidak memiliki informasi di *PubChem* diprediksi menggunakan metode konsensus dalam *Toxicity Estimation Software Tool* (T.E.S.T).

### 2.5.8 Tahap Pelaporan

Data yang diperoleh akan diolah dan dianalisis, selanjutnya dilaporkan dalam bentuk tabel hasil penelitian.