

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Inflamasi pada pulpa adalah reaksi jaringan ikat vaskuler terhadap iritan, yang dikenal sebagai pulpitis. Inflamasi ini adalah proses kompleks yang melibatkan reaksi neurovaskuler dan merupakan bagian penting dari fenomena neurogenik saat jaringan pulpa bertindak sebagai pertahanan terhadap iritan, panas, mekanik, kimia, atau bakteri. (Jain et al., 2013). Sitokin utama pada inflamasi adalah tumor necrosis factor- α (TNF- α) dan interleukin-1 β (IL-1 β) yang diproduksi oleh makrofag yang teraktivasi, sel mast, sel endotel, dan beberapa jenis sel lain seperti odontoblas dan fibroblas (Kumar, 2006).

TNF- α dan IL-1 β berperan dalam inflamasi dengan merangsang ekspresi molekul adhesi pada sel endotel, meningkatkan perlekatan dan migrasi leukosit, mengaktifkan fibroblas jaringan, meningkatkan proliferasi dan produksi matriks ekstraseluler, mengaktifkan agregasi dan aktivasi neutrofil. (Saddala dan Huang 2019). Hal ini didukung oleh penelitian mengenai peningkatan ekspresi MMP-8 oleh sel odontoblas dan fibroblas pulpa diduga diinduksi sitokin pro inflamasi seperti TNF- α dan IL-1 β (Fatimatu Zahro, 2014). Peran sitokin, TNF- α , IL-1 α , dan IL-1 β secara khusus ditandai dengan baik dalam mengatur respons imun pada pulpa sebagai respons terhadap karies dan infeksi periapikal yang lebih jauh (Farges et al., 2015).

Pulpa yang mengalami inflamasi bisa dilakukan perawatan untuk mencegah kerusakan lebih lanjut dengan mengaplikasikan *capping agent*. Kalsium hidroksida ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) dalam kedokteran gigi telah lama digunakan dalam pengembangan perawatan biologis untuk pulpa terbuka, karena sifat antibakterinya yang kuat dan memiliki kemampuan untuk merangsang pembentukan dentin reparative (Nowicka et al., 2016). Sebaliknya $\text{Ca}(\text{OH})_2$ memiliki keterbatasan, tidak menempel baik pada dentin dan larut seiring waktu sehingga dapat gagal memberikan perlindungan yang efektif terhadap bakteri, dapat menimbulkan *tunnel defect* yang berpori pada permukaan *dentin bridge* sehingga memberikan jalan bagi bakteri untuk berpenetrasi ke dalam pulpa dan mengaktifkan sel-sel imun yang semakin memperparah proses inflamasi pulpa (Qureshi et al. 2014; Abuarqoub et al. 2022).

Kalsium hidroksida mengaktifkan *nuclear factor kappa beta* (NF- κ B), yang menstimulasi proses peradangan (Nirwana et al., 2021; Hanafi et al., 2021). Jika tingkat peradangan pulpa relatif ringan, terjadi efek positif pada pulpa dan memungkinkan sel induk/progenitor berdiferensiasi menjadi sel

mirip odontoblas serta membentuk dentin reparatif. Sebaliknya, jika intensitas peradangan relatif tinggi, terjadi peningkatan ekspresi mediator inflamasi lainnya seperti spesies oksigen reaktif (ROS), dapat mengakibatkan pulpitis ireversibel, nekrosis, dan gangguan proses regeneratif dan reparative (Arora et al., 2021). Oleh karena itu banyak penelitian dilakukan untuk mendapatkan alternative kalsium hidroksida atau menambahkan bahan lain sebagai bahan tambahan *capping agent* yang dapat mengurangi inflamasi dari kalsium hidroksida sehingga viabilitas sel pada pulpa meningkat. (Rahayu et al., 2020).

Salah satu bahan alami yang memiliki potensi dapat mengurangi inflamasi pada pulpa gigi adalah daun kelor (*Moringa oleifera*) yang diketahui memiliki mekanisme yang mirip dengan obat antiinflamasi nonsteroid. Penelitian yang dilakukan Sulistyawati menemukan bahwa ekstrak etanol daun kelor dapat menghambat ekspresi COX-2 (Sulistyawati dan Pratiwi, 2016). Penelitian lain menunjukkan daun kelor dapat digunakan sebagai bahan irigasi alternatif untuk perawatan saluran akar sebagai antibakteri. Hasil penelitian Sopandani P dkk secara ex vivo melaporkan, ekstrak larutan *M.oleifera* pada konsentrasi 75% dan 100% sama efektifnya dengan NaOCl 5,25% dalam menurunkan jumlah *E.faecalis* dalam saluran akar (Sopandani P, 2020). Ekstrak moringa oleifera juga menunjukkan kemampuan yang jauh lebih baik secara in vitro untuk menghilangkan *smear layer* dibandingkan dengan NaOCl 2,5% dan EDTA 17% (Natsir et al., 2023).

Uraian di atas menunjukkan berbagai manfaat yang dimiliki daun kelor karena berbagai senyawa bioaktif yang dimilikinya. Oleh karena itu daun kelor perlu diteliti lebih jauh karakteristik anti inflamasinya. Pada penelusuran awal didapatkan 54 senyawa bioaktif yang terkandung dalam daun kelor dan diperlukan waktu panjang serta biaya yang besar dalam mengkarakterisasinya.

Metode *in silico* merupakan pilihan yang dapat digunakan melalui perhitungan komputasi kinerja tinggi untuk menganalisis suatu *database* dari banyak senyawa kimia untuk mengidentifikasi probabilitas kandidat obat secara *virtual* (Makatita dkk, 2020). *In silico* banyak digunakan dalam penelitian awal bidang obat-obatan dan kesehatan, waktu lebih ringkas dan biaya ekonomis. Malihahsisna dkk melakukan uji *in silico* potensi kandungan terpenoid getah tanaman herbal jarak cina (*Jatropha multifida* Linn.) terhadap *Mpro SARS-CoV-2* dalam pencegahan virus Covid-19. Hasil penelitian ini menunjukkan senyawa metabolit sekunder terpenoid pada tanaman jarak cina yaitu multifidanol, multifidenol, multidione, multifolone, dan multifidone berpotensi sebagai antivirus Covid-19 melalui uji *in silico* (Malihahsisna, 2022). Studi *in silico* lain yang dilakukan Tahghighi, 2020, senyawa PfLDH (*Plasmodium falciparum* lactate dehydrogenase enzyme) menunjukkan aktivitas *anti-plasmodial*, yang kemudian didukung hasil uji *in vivo* yang

memverifikasi senyawa ini efektif terhadap parasit malaria (Tahghighi et al., 2020).

Peneliti tertarik untuk melakukan uji pendahuluan terhadap berbagai senyawa bioaktif daun kelor yang berkaitan dengan karakteristik anti inflamasinya terhadap parameter sitokin pro inflamatori TNF- α , IL-1 β , IL-1 α untuk memprediksi senyawa bioaktif yang dapat dijadikan sebagai kandidat bahan tambahan capping agent melalui metode *in silico*.

1.2 Rumusan Masalah

Sebagai kandidat bahan tambahan capping agent, bagaimana interaksi senyawa bioaktif daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap TNF- α , IL-1 β dan IL-1 α melalui studi *in silico*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Penelitian ini bertujuan mengevaluasi interaksi senyawa bioaktif daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap TNF α , IL-1 β dan IL-1 α sebagai kandidat bahan tambahan capping agent dengan studi *in silico*.

1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini adalah:

- mengevaluasi energi ikatan yang terbentuk dari hasil docking senyawa bioaktif daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap TNF- α , IL-1 β dan IL-1 α melalui studi *in silico*.
- mengevaluasi jenis interaksi dari hasil *docking* senyawa bioaktif daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap TNF- α , IL-1 β dan IL-1 α melalui studi *in silico*.
- mengevaluasi senyawa bioaktif daun kelor (*Moringa oleifera*) yang memiliki ikatan yang baik dengan TNF- α , IL-1 β dan IL-1 α sehingga berpotensi sebagai kandidat bahan obat. melalui studi *in silico*

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai bahan rujukan referensi, masukan, dan wawasan tentang studi *in silico* senyawa bioaktif daun kelor (*Moringa oleifera*) terhadap TNF α , IL-1 β dan IL-1 α sebagai kandidat bahan tambahan *capping agent*.

1.4.2 Manfaat Klinis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai masukan dalam pengembangan dan pemanfaatan hasil sumber daya alam sulawesi selatan, yaitu daun kelor yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan yang memiliki potensi sebagai bahan *capping agent*.

1.4.3 Manfaat Bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan berguna untuk pengembangan kandidat bahan tambahan yang dapat digunakan dalam perawatan pulp capping berbahan dasar alam khususnya untuk masyarakat Sulawesi Selatan dengan menggunakan daun kelor.

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 Penelitian

2.2.1 Alat yang Digunakan

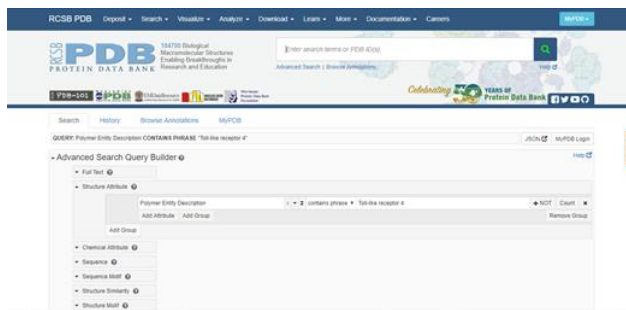
2.2.1.1 Perangkat Keras

Perangkat keras yang digunakan dalam penelitian ini berupa Laptop dan sistem operasi *Windows 10*.

2.2.1.2 Perangkat Lunak

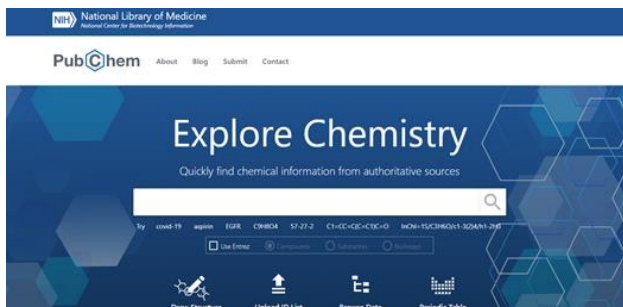
Perangkat lunak docking molekuler adalah alat yang sangat penting dalam biologi komputasi dan penemuan obat. Perangkat lunak ini memungkinkan simulasi dan prediksi interaksi antara molekul kecil dan protein target, dan menggunakan algoritma yang canggih untuk memberikan gambaran rinci tentang fenomena pengikatan molekul. (Mursal,2024). Perangkat lunak yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya : *Protein Data Bank* (PDB), Website Pubchem, Aplikasi pyrx, Aplikasi *Autodock 4*, Aplikasi *Biovia Discovery Studio*, Website pkCSM, Website *Protox Online Tool*.

a. Website *Protein Data Bank* (PDB) ID (<https://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>) untuk mendownload data protein



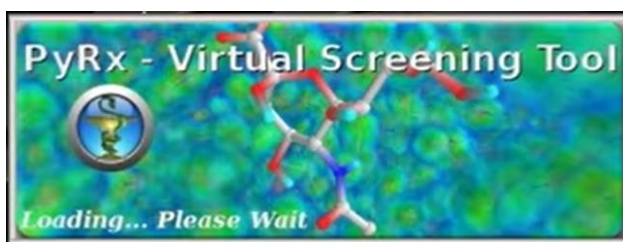
Gambar 2. 4 Tampilan Website Protein Data Bank

- b. Website Pubchem yang merupakan database berisi informasi berbagai entitas kimia.



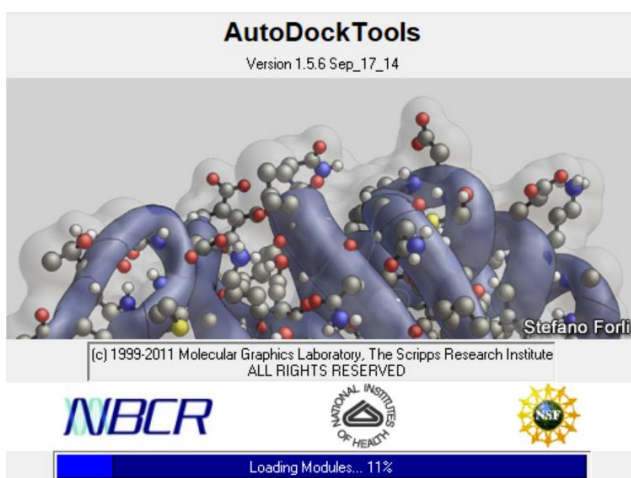
Gambar 2. 5 Tampilan Website PubChem

- c. Aplikasi pyrx untuk preparasi ligan atau senyawa



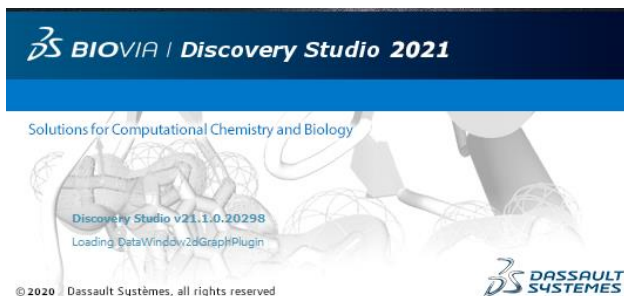
Gambar 2. 6 Aplikasi pyrx

- d. Aplikasi *Autodock* untuk prosedur *docking ligan dan reseptor*



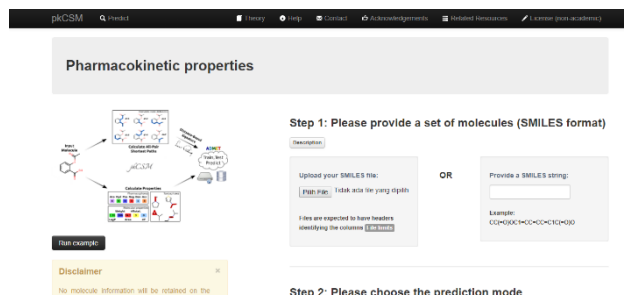
Gambar 2. 4 Aplikasi Autodock

- e. Aplikasi Biovia *Discovery Studio* untuk visualisasi hasil *docking*.



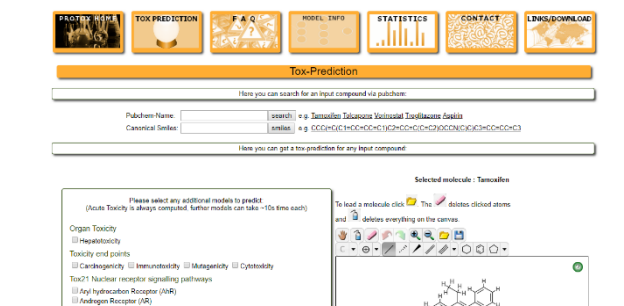
Gambar 2. 5 Aplikasi Biovia *Discovery Studio*

- f. Website pkCSM untuk melakukan prediksi ADMET



Gambar 2. 6 Tampilan Website pkCSM

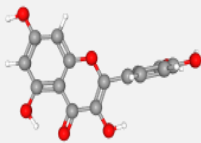
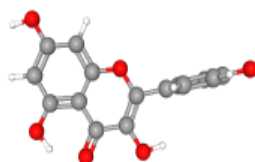
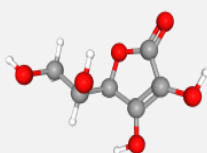
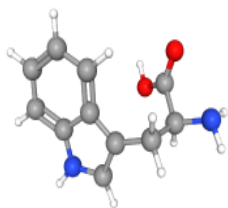
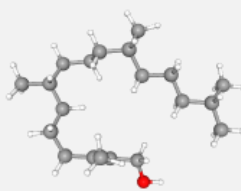
- g. Website *Protox Online Tool* untuk prediksi Toksisitas senyawa

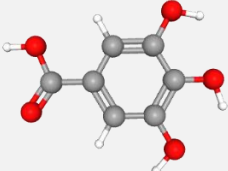
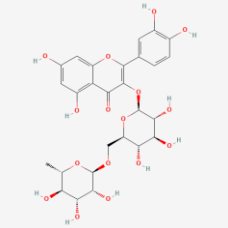
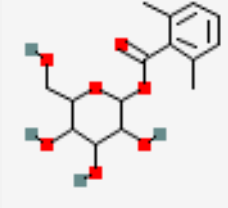
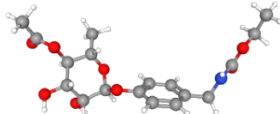
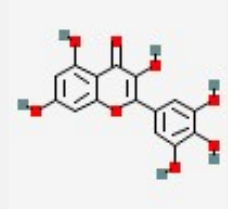
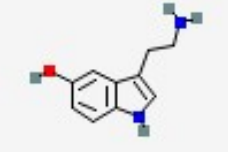


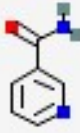
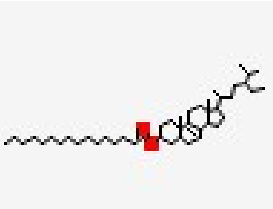
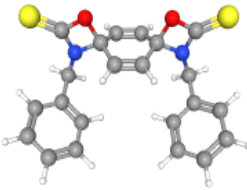
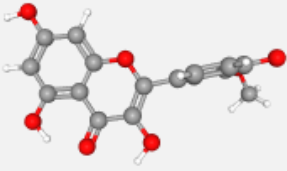
Gambar 2. 7 Tampilan Website Protox Online Tool

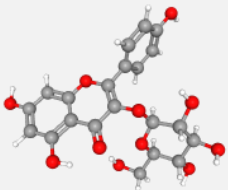
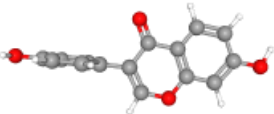
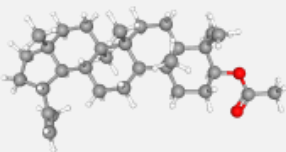
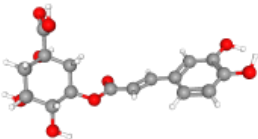
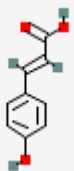
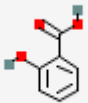
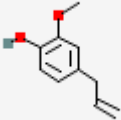
2.2.2 Bahan yang Digunakan

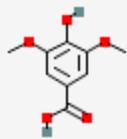
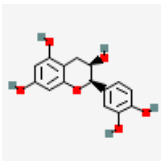
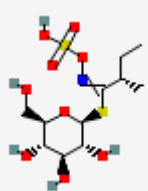
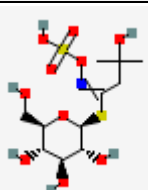
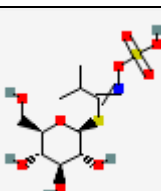
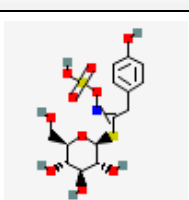
Tabel 2.1 54 Senyawa Bioaktif Daun Kelor (*Moringa Oleifera*)

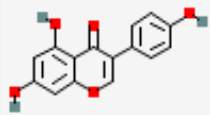
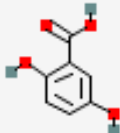
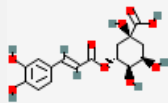
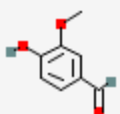
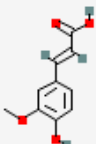
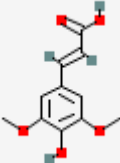
No.	Nama	Gambaran 2D/3D	Formula	Sumber
1.	<i>Quercetin</i>		C ₁₅ H ₁₀ O ₇	Pubchem
2.	<i>Kaemferol</i>		C ₁₅ H ₁₀ O ₆	Pubchem
3.	<i>Vitamin C</i>		C ₆ H ₈ O ₆	Pubchem
4.	<i>Tryptophan</i>		C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂	Pubchem
5.	<i>Phytol</i>		C ₂₀ H ₄₀ O	Pubchem

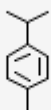
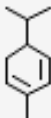
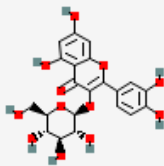
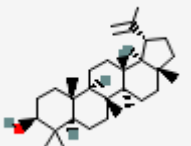
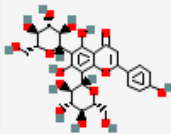
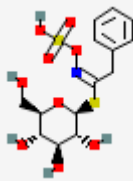
No.	Nama	Gambaran 2D/3D	Formula	Sumber
6.	<i>Gallic acid</i>		C ₇ H ₆ O ₅	Pubchem
7.	<i>rutin</i>		C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	Pubchem
8.	<i>Moringyne</i>		C ₁₅ H ₂₀ O ₇	Pubchem
9.	<i>niazimin</i>		C ₁₈ H ₂₅ NO ₈	Pubchem
10.	<i>myricetin</i>		C ₁₅ H ₁₀ O ₈	Pubchem
11.	<i>Serotonin</i>		C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O	Pubchem

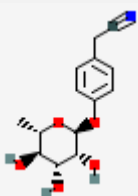
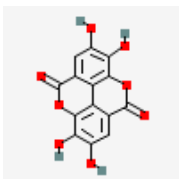
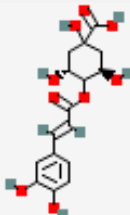
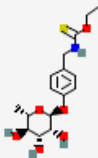
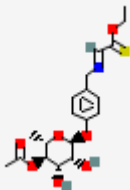
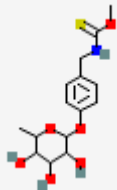
No.	Nama	Gambaran 2D/3D	Formula	Sumber
12.	Nicotinamide		C ₆ H ₆ N ₂ O	Pubchem
13.	beta-Sitosterol		C ₄₅ H ₈₀ O ₂	Pubchem
14.	Amino (methoxysulfin yl) pentasulfide		CH ₅ NO ₂ S ₆	Pubchem
15.	Pterygospermin		C ₂₂ H ₁₈ N ₂ O 2S ₂	Pubchem
16.	Isorhamnetin		C ₁₆ H ₁₂ O ₇	Pubchem

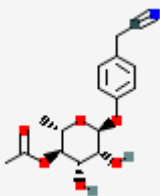
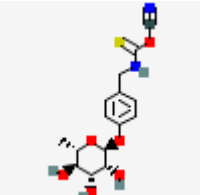
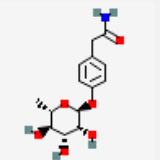
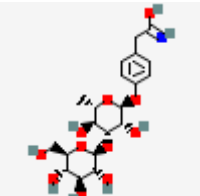
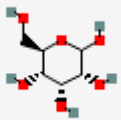
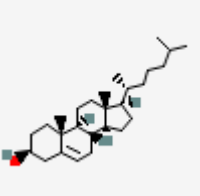
No.	Nama	Gambaran 2D/3D	Formula	Sumber
17.	<i>Astragalin</i>		C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	Pubchem
18.	<i>Daidzein</i>		C ₁₅ H ₁₀ O ₄	Pubchem
19.	<i>Lupeol acetate</i>		C ₃₂ H ₅₂ O ₂	Pubchem
20.	<i>Chlorogenic Acid</i>		C ₁₆ H ₁₈ O ₉	Pubchem
21.	<i>p-Coumaric acid</i>		C ₉ H ₈ O ₃	Pubchem
22.	<i>Salicylic acid</i>		C ₇ H ₆ O ₃	Pubchem
23.	<i>Eugenol</i>		C ₁₀ H ₁₂ O ₂	Pubchem

No.	Nama	Gambaran 2D/3D	Formula	Sumber
24.	<i>Syringic acid</i>		C ₉ H ₁₀ O ₅	Pubchem
25.	<i>Epicatechin</i>		C ₁₅ H ₁₄ O ₆	Pubchem
26.	<i>Glucocochlearin</i>		C ₁₁ H ₂₁ NO ₉ S ₂	Pubchem
27.	<i>Glucoconringiin</i>		C ₁₁ H ₂₁ NO ₁₀ S ₂	Pubchem
28.	<i>Glucoputranjivin</i>		C ₁₀ H ₁₉ NO ₉ S ₂	Pubchem
29.	<i>Sinalbin</i>		C ₁₄ H ₁₉ NO ₁₀ S ₂	Pubchem

No.	Nama	Gambaran 2D/3D	Formula	Sumber
30.	<i>Genistein</i>		C ₁₅ H ₁₀ O ₅	Pubchem
31.	<i>Gentisic acid</i>		C ₇ H ₆ O ₄	Pubchem
32.	<i>5-Caffeoylquinic acid</i>		C ₁₆ H ₁₈ O ₉	Pubchem
33.	<i>Vanillin</i>		C ₈ H ₈ O ₃	Pubchem
34.	<i>Ferulic acid</i>		C ₁₀ H ₁₀ O ₄	Pubchem
35.	<i>Sinapic acid</i>		C ₁₁ H ₁₂ O ₅	Pubchem

No.	Nama	Gambaran 2D/3D	Formula	Sumber
36.	<i>p</i> -Cymene		C ₁₀ H ₁₄	Pubchem
37.	<i>alpha</i> -Phellandrene		C ₁₀ H ₁₆	Pubchem
38.	<i>Hirsutrin</i>		C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	Pubchem
39.	<i>Lupeol</i>		C ₃₀ H ₅₀ O	Pubchem
40.	<i>Vicenin</i>		C ₂₇ H ₃₀ O ₁₅	Pubchem
41.	<i>Benzylglucosinolate</i>		C ₁₄ H ₁₉ NO ₉ S ₂	Pubchem

No.	Nama	Gambaran 2D/3D	Formula	Sumber
42.	Niazirin		C ₁₄ H ₁₇ NO ₅	Pubchem
43.	Ellagic acid		C ₁₄ H ₆ O ₈	Pubchem
44.	4-Caffeoylquinic acid		C ₁₆ H ₁₈ O ₉	Pubchem
45.	Benzyl isothiocyanate		C ₈ H ₇ NS	Pubchem
46.	Niazimicin A		C ₁₆ H ₂₃ NO ₆ S	Pubchem
47.	Niaziminin A		C ₁₈ H ₂₅ NO ₇ S	Pubchem
48.	Niazinin A		C ₁₅ H ₂₁ NO ₆ S	Pubchem

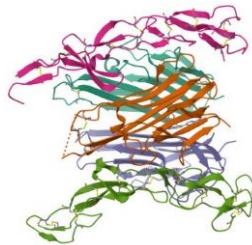
No.	Nama	Gambaran 2D/3D	Formula	Sumber
49.	Niazirinin		C ₁₆ H ₁₉ NO ₆	Pubchem
50.	Niazidin		C ₁₅ H ₁₈ N ₂ O ₆ S	Pubchem
51.	Marumoside A		C ₁₄ H ₁₉ NO ₆	Pubchem
52.	Marumoside B		C ₂₀ H ₂₉ NO ₁₁	Pubchem
53.	D-Allose		C ₆ H ₁₂ O ₆	Pubchem
54.	Cholest-5-en-3-ol		C ₂₇ H ₄₆ O	Pubchem

2.2.3. Reseptor target

Struktur tiga dimensi dari reseptor *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α) (PDB ID:7KP8), *Interleukin 1 beta* (IL-1 β) (PDB ID:5R8O), *Interleukin 1 alpha* (IL-1 α) (PDB ID:1IRA), yang berfungsi sebagai protein target diperoleh dari website PDB ID <https://www.rcsb.org/pdb>.

1. *Tumor necrosis factor α* (TNF α)

Reseptor yang digunakan adalah *Tumor necrosis factor α* (TNF α) yang diperoleh dari Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb/>).



Gambar 2.8: Reseptor TNF- α dengan PDB ID 7KP8 (sumber : PDB)

2. *Interleukin 1 Beta*

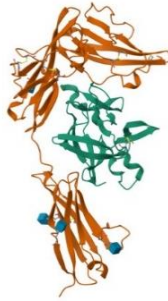
Reseptor yang digunakan adalah *Interleukin 1 beta* yang diperoleh dari Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb/>).



Gambar 2.9: Reseptor IL-1 β dengan PDB ID 5R8O (sumber : PDB)

3. *Interleukin 1 Alpha*

Reseptor yang digunakan adalah *Interleukin 1 Alpha* yang diperoleh dari Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb/>).



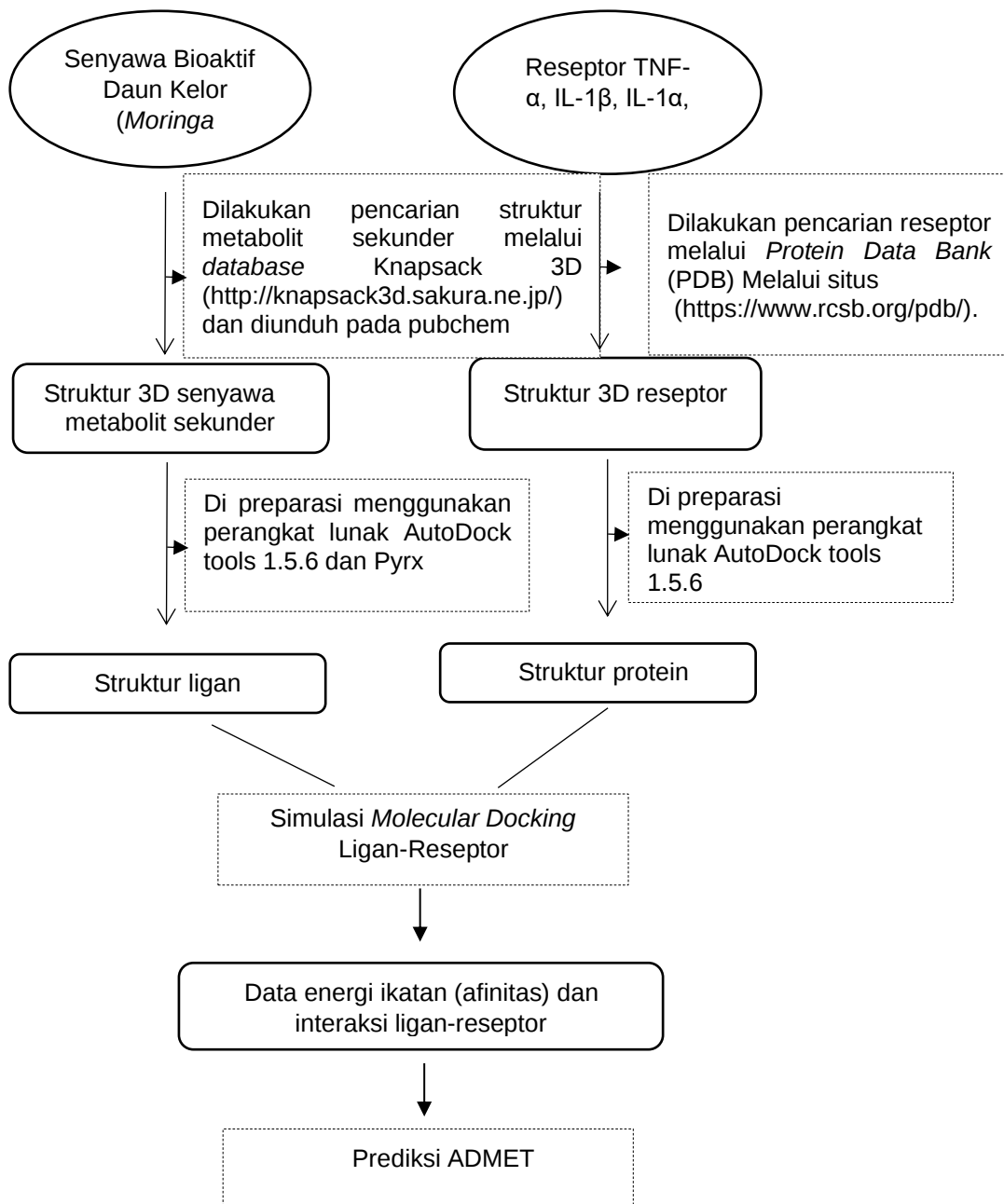
Gambar 2.10: Reseptor IL-1 α dengan PDB ID 1IRA (sumber : PDB)

2.3 Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian *eksperimental* secara studi *in silico* untuk menguji apakah variabel-variabel eksperimen efektif atau tidak dengan bantuan sistem komputer. Penelitian ini menggunakan analisis *molecular docking* dari interaksi reseptor dan ligan yang didapatkan dari web *Protein Data Bank* (PDB) ID dan pubchem. Struktur metabolit sekunder diperoleh melalui database Knapsack (<http://www.knapsackfamily.com>).

Interaksi antara senyawa bioaktif dan daun kelor (*Moringa Oleifera*) sebagai ligan terhadap TNF α , IL-1 β , dan IL-1 α sebagai reseptor dianalisis menggunakan aplikasi *Autodock*. Ligan dan reseptor yang ditargetkan akan divisualisasikan menggunakan aplikasi *software BIOVIA Discovery Studio*.

Alur penelitian



2.4. Parameter Pengamatan

Penelitian melakukan beberapa tahapan kegiatan dengan parameter tertentu, yaitu:

1. Validasi metode docking

Dilakukan redocking native ligand terhadap reseptornya selama proses validasi metode docking ini. Nilai RMSD (Root Mean Square Deviation) adalah parameter yang diamati dalam proses ini. Metode docking dianggap valid selama nilai RMSD kurang dari 2 Å. Jika nilai RMSD lebih besar dari 2 Å, metode tersebut tidak valid. (Frengki et al., 2013).

2. Metabolit sekunder

Dalam proses docking, parameter yang diamati adalah energi pengikatan bebas dalam satuan Kcal/mol. Semakin rendah energi pengikatan antara ligan dan reseptor, semakin stabil ikatan. (Rizky, 2020).

3. Visualisasi Molecular Docking dengan Discovery Studio 2017 R2 Client

Parameter yang diamati dalam eksperimen ini adalah kesesuaian antara residu asam amino dan jenis ikatan yang dibentuk antara ligan dan reseptor. Interaksi antara ligan uji dan jenis ikatan yang sebanding dengan ligan asli menunjukkan aktivitas yang sebanding. Discovery Studio digunakan untuk menampilkan hasil docking molekuler. (Rizky, 2020)

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

Menurut aturan Lipinski, absorpsi dan distribusi obat terkait dengan pemberian oral. Lima Peraturan Lipinski menetapkan bahwa berat molekul tidak boleh melebihi 500 g/mol, koefisien partisi (logP) tidak boleh melebihi 5, dan jumlah ikatan hidrogen antara donor dan akseptor tidak boleh melebihi 5. Selama tidak ada pelanggaran terhadap aturan Lipinski RO5, senyawa uji dianggap memenuhi syarat untuk digunakan sebagai sediaan oral. Lipinski (2004) Bioavailabilitas yang rendah, fraksi yang diserap yang rendah, fraksi terikat yang lebih tinggi, dan pembersihan ginjal yang buruk semua dikaitkan dengan peningkatan berat molekul (Sakaeda et al., 2001). Nilai logP suatu senyawa berkisar antara -0,56 dan 4,29. Nilai logP yang lebih tinggi menunjukkan lebih sedikit hidrofilisitas senyawa, yang menunjukkan rendahnya bioavailabilitas (Singh, 2016).

5. Prediksi ADMET

Analisis Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Eliminasi, dan Toksisitas (ADMET) sangat penting untuk penemuan dan pengembangan obat. Software berbasis web, seperti SwissADME

(<http://www.swissadme.ch>) atau website PkCSM, digunakan untuk menguji parameter ini. Alat Estimasi Toksisitas Software (T.E.S.T.) menggunakan metode konsensus untuk memprediksi beberapa senyawa yang tidak ada di PubChem.

2.5. Pelaksanaan Penelitian

2.5.1. Persiapan Ligan

a. Pengunduhan Ligan

Penelitian ini menggunakan metode *Molecular docking*. Ligan yang digunakan adalah senyawa bioaktif daun kelor yang diperoleh dari *database knapsack* dan diunduh dengan PubChem ID sesuai senyawa yang akan dilakukan *docking*. Diunduh dengan format .sdf, yang diperoleh dari <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

b. Preparasi Ligan

Preparasi ligan menggunakan aplikasi perangkat lunak AutoDock tools 1.5.6.

2.5.2. Persiapan Reseptor

a. Pengunduhan

Protein Data Bank dengan alamat situs (<http://www.rcsb.org/pdb/>) penelitian ini menggunakan *TNF- α* , *IL-1 β* , *IL-1 α* dengan identitas makromolekul PDB ID diunduh dalam format pdb.

b. 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. Prosedur Molecular docking

Docking molekul senyawa bioaktif daun kelor dilakukan dengan menggunakan docking Autodock.

2.5.4. (Skor) Fungsi Penilaian

Penilaian dalam penelitian ini berupa penilaian terhadap Root Mean Square Deviation (RMSD) dengan satuan amstrong (Å).

2.5.5. Validasi metode docking

Tujuan validasi docking adalah untuk memastikan bahwa orientasi ligan dan posisi yang dihasilkan dari studi docking bernilai valid di mana nilai $RMSD \leq 2,0 \text{ Å}$.

2.5.6. Visualisasi Hasil Docking

Tujuan visualisasi untuk menganalisis jenis interaksi antara senyawa bioaktif daun kelor dengan *TNF- α* , *IL-1 β* , *IL-1 α* . Analisis data dilakukan Biovia *Discovery Studio* dengan memperhatikan hasil *docking* senyawa aktif daun kelor dengan *TNF- α* , *IL-1 β* , *IL-1 α* .

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. Profil ADMET dan Drug Likeness

Analisis *absorpsi, distribusi, metabolisme, eliminasi, dan toksisitas* (ADMET) merupakan hal yang penting dalam penemuan dan pengembangan obat. *Drug likeness* ditentukan oleh aturan *Lipinski 5* (RO5). Profil ADMET yang berhubungan dengan RO5 seperti *H-bond donor* (HBD) kurang dari 5, *H-bond acceptor* (HBA) kurang dari 10, *Moriguchi Log P* (M Log P) kurang dari 4,15 atau terhitung sebagai Log P (C Log P) kurang dari 5, dan berat molekul kurang dari 500 g/mol. Sifat fisikokimia lainnya seperti *topological polar surface area* (TPSA, kurang dari Å²) juga dianalisis. *Software* berbasis web, yaitu *SwissADME* (<http://www.swissadme.ch>) atau *website PkCSM* digunakan untuk memeriksa parameter tersebut. 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

Tabel hasil penelitian akan dibuat dari data yang dikumpulkan, diolah, dan dianalisis.