

PENGARUH AKTIVITAS SENYAWA FLAVONOID YANG TERDAPAT DALAM MADU TERHADAP RESEPTOR H₄R SEBAGAI ANTIINFLAMASI

Deden Indra Dinata¹, Rika Rendrika¹, Yuana Nita Kustida¹

denindra@stfb.ac.id

¹sekolah Tinggi Farmasi Bandung

ABSTRAK

Hesperetin, luteolin, kaempferol, isorhamnetin, dan galangin merupakan senyawa aktif yang terkandung dalam madu. Kelima senyawa ini secara *in vivo* memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi. Tujuan Penelitian simulasi *docking* ini dilakukan untuk memvisualisasikan interaksi antara kelima ligan tersebut dengan reseptor histamin H₄ dibandingkan dengan senyawa sintesis JNJ777120 yang terbukti bertindak sebagai antagonis selektif reseptor histamin H₄ dengan khasiat antiinflamasi. Hasil simulasi *docking* menunjukkan bahwa JNJ777120 merupakan senyawa antagonis reseptor histamin H₄ terbaik, tetapi senyawa hesperetin, luteolin, kaempferol, isorhamnetin, dan galangin juga diprediksi berpotensi sebagai antagonis reseptor histamin H₄. Sifat toksikologi difokuskan pada *carcinogenicity* dan *mutagenicity* karena menjadi perhatian penting dalam kesehatan manusia dan berhubungan langsung struktur desain obat. Kesimpulannya adalah senyawa JNJ777120 dinilai sebagai senyawa antagonis H₄R terbaik, tetapi senyawa hesperetin, luteolin, kaempferol, isorhamnetin, dan galangin juga diprediksi berpotensi sebagai antagonis reseptor histamin H₄. JNJ777120, galangin, hesperetin, kaempferol, dan luteolin tidak bersifat *carcinogen* dan *mutagen* sedangkan isorhamnetin diprediksi bersifat *carcinogen*.

Kata kunci: Reseptor Histamin H₄, flavonoid, antiinflamasi

ABSTRACT

Hesperetin, luteolin, kaempferol, isorhamnetin, and galangin are an active compounds contained in the honey. The fifth of these compounds *in vivo* has as anti-inflammatory activity. Docking simulation was done to visualize the interaction between the fifth ligand to the histamine H₄ receptor compared with synthetic compounds that proved JNJ777120 act as receptor selective H₄R antagonist with anti-inflammatory properties. Docking simulation results showed that JNJ777120 is best histamine H₄ receptor antagonist compound, but the compound of hesperetin, luteolin, kaempferol, isorhamnetin, and galangin also predicted potential as histamine H₄ receptor antagonist. Toxicological properties focused on carcinogenicity and mutagenicity as an important concern in human health and drug design structure are directly related. The conclusion was JNJ777120 compound H₄R antagonist compound was rated as the best, but the compound hesperetin, luteolin, kaempferol, isorhamnetin, and galangin also predicted potential as histamine H₄ receptor antagonist. JNJ777120, galangin, hesperetin, kaempferol, luteolin and non- carcinogens and mutagens are carcinogens while predictable isorhamnetin

Keywords: Histamine H₄ Receptor, flavonoid, anti-inflammatory

PENDAHULUAN

Histamin merupakan protein penting yang terlibat dalam berbagai reaksi alergi. Alergi disebabkan oleh respon kekebalan tubuh terhadap suatu zat yang biasanya tidak berbahaya (misalnya serbuk sari bunga atau debu) yang kontak dengan limfosit spesifik, atau antigen.

Golongan pertama, reseptor H₁, diuraikan oleh Schild pada tahun 1966. Reseptor H₂ ditemukan pada tahun 1972 oleh Black dkk. (Hill *et al*, 1997). Kemudian ditemukan reseptor H₃ yang merupakan reseptor prasinaps yang mengendalikan pelepasan dan sintesis histamina (Nogrady, 1992).

Sangat sedikit yang diketahui mengenai fungsi biologis yang sebenarnya dari H₄R. Reseptor histamin H₄ dapat bertindak sebagai *chemotaxis* dan masuknya kalsium dalam sel mast. Data praklinis pertama dalam *in vivo* untuk ligan reseptor H₄, ini anggota keluarga baru reseptor histamin diharapkan menjadi target penting dalam bagian gangguan inflamasi dan nyeri *neuropatik* (Leurs *et al*, 2009).

Radang atau inflamasi adalah respon dari suatu organisme terhadap patogen dan alterasi mekanis dalam jaringan, berupa rangkaian reaksi yang terjadi pada tempat jaringan yang mengalami cedera, seperti karena terbakar, atau terinfeksi. (Janeway *et al*, 2001)

Madu memiliki aktifitas sebagai antiinflamasi (Molan, 2012) yang diduga diperoleh dari kandungan flavonoidnya yang tinggi. Terdapat banyak macam flavonoid yang teridentifikasi dari dalam madu, antara lain quercetin, naringenin, hesperetin, luteolin, kaempferol, isorhamnetin, dan galangin. (Petrus *et al*, 2011).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan memperkirakan pola interaksi antara hesperetin, luteolin, kaempferol, isorhamnetin, dan galangin terhadap reseptor H₄R untuk aktivitas antiinflamasi.

BAHAN DAN METODOLOGI PENELITIAN

Metodologi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode kualitatif yang meliputi persiapan ligan, persiapan makromolekul reseptor, validasi perangkat lunak, *docking* senyawa uji dengan molekul target dan interpretasi data hasil, selanjutnya dilakukan prediksi toksisitas.

Penelitian dimulai dengan menyiapkan struktur 3D reseptor histamin H₄ (H₄R) yang diperoleh dari basis data *on line GenBank* (<http://www.uniprot.org/uniprot/>) dengan kode Q9H3N8 dalam bentuk *file* pdb.

Persiapan ligan dengan menggunakan program ChemOffice® versi 2004 meliputi pemodelan molekul 2D dan 3D, dilanjutkan penetapan deskriptor dengan melakukan perhitungan beberapa parameter fisikokimia dari senyawa yang akan diteliti. Persiapan reseptor H₄R yang diperoleh dari basis data *on line* dilakukan penentuan kantung ikatan reseptor tersebut dengan menggunakan *Q-Site Finder*. Kemudian validasi perangkat lunak dengan menghitung simpangan baku energi bebas ikatan hasil simulasi *docking*. Simulasi *docking* hesperetin, luteolin, kaempferol, isorhamnetin, galangin, quercetin, dan JNJ7777120 dengan molekul reseptor target yaitu H₄R dengan menggunakan *Autodock 4.2* dalam paket program *MGL tools v1.5.6*. Selanjutnya dilakukan prediksi tentang toksisitas dari molekul dengan menggunakan program *ToxTree* untuk mengetahui gambaran sifat toksisitas penggunaan obat terhadap tubuh.

1. Persiapan Ligan

Proses penelitian ini diawali dengan pembuatan struktur 2D dari senyawa JNJ7777120, galangin, hesperetin, isorhamnetin, kaempferol dan luteolin dengan menggunakan ChemDraw. Setelah struktur 2D dibuat, struktur senyawa diubah dalam bentuk 3D menggunakan Chem3D karena bentuk tersebut yang akan digunakan dalam proses *docking* senyawa obat ke reseptor. Kemudian ditetapkan parameter fisikokimianya dan selanjutnya

dilakukan optimasi geometri untuk mengetahui konformasi paling stabil dari senyawa tersebut.

2. Penetapan Parameter Fisikokimia

Penetapan sifat fisikokimia dilakukan pada setiap obat yang dianalisis dengan menggunakan program komputasi kimia, hasil yang didapat selanjutnya digunakan dalam analisis hubungan struktur dan sifat fisikokimia yang dimiliki obat terhadap aktifitasnya.

Hasil Penetapan Koefisien Partisi (Log P)

Penetapan Koefisien Partisi dilakukan dengan menggunakan ChemDraw. Nilai ^cLog P (calculation log P) menunjukkan nilai Log P (lipofilitas) yang dihasilkan dari perhitungan komputasi. Nilai ^cLog P sebanding dengan nilai log P. Istilah ^cLog P digunakan pada perhitungan secara komputasi, sedangkan dengan istilah Log P dilakukan penelitian secara laboratorium.

Lipofilitas dapat dilihat dari koefisien partisi, yaitu perbandingan antara kelarutan senyawa dalam lemak dan dalam air, semakin besar nilai koefisien partisi menunjukkan senyawa semakin mudah larut dalam lemak. Suatu obat membutuhkan kelarutan dalam lemak yang baik agar dapat menembus membran sel secara difusi pasif karena membran sel tersusun oleh molekul lemak.

Tabel 1. Hasil Penetapan Koefisien Partisi

SENYAWA	Log p	^c Log P
JNJ7777120	1,32	2,51981
Galangin	1,13	2,56402
Hespererin	1,50	2,29405
Isorhamnetin	0,61	1,75142
Kaempferol	0,74	1,89989
Luteolin	1,51	2,31115

Hasil dari penetapan koefisien partisi dari senyawa menunjukkan bahwa setiap senyawa memiliki nilai ^cLog P yang berbeda namun secara keseluruhan keenam senyawa bersifat lipofilik dan berada dalam rentang nilai yang baik menurut *lipinski's rule of five* (rentang yang baik adalah $-2 < \text{Log P} < 5$) sehingga keenam senyawa ini diprediksikan dapat mudah menembus membran, yang paling ditunjukkan oleh

JNJ7777120 dan galangin yang memiliki nilai ^cLog P yang berdekatan sehingga dapat disimpulkan bahwa JNJ7777120 dan galangin lebih lipofilik dari senyawa yang lainnya.

3. Penetapan Muatan Parsial

Penetapan muatan parsial dilakukan terhadap masing-masing senyawa dengan menggunakan program Chem3D. Hasil dari penetapan nilai muatan parsial obat H₄R inhibitor selanjutnya digunakan untuk melihat kolerasi antara muatan-muatan setiap unsur pembangun dari senyawa-senyawa H₄R inhibitor dengan reseptornya (H₄R), sehingga dapat identifikasi setelah dilakukan *docking* obat terhadap reseptor (H₄R).

Table 2. Hasil Penetapan Muatan Parsial

SYW	EXTREME POSITIVE		EXTREME NEGATIVE	
	No. Atom	Muatan Parsial	No. Atom	Muatan Parsial
JNJ	N (12)	0,418	O (13)	-0,895
GAL	C (7)	0,320	O (21)	-0,706
HES	C (7)	0,440	O (21)	-0,625
ISO	C (7)	0,317	O (21)	-0,710
KAE	C (7)	0,316	O (21)	-0,711
LUT	C (7)	0,356	O (19)	-0,722

4. Penetapan Energi HOMO & LUMO

Penetapan energi HOMO (*highest energy occupied molecular orbital*) dan LUMO (*lowest energy occupied molecular orbital*) dilakukan terhadap setiap obat dengan menggunakan program Chem3D. *Band gap* adalah selisih energi keduanya.

Tabel 3. Hasil Penetapan Energi HOMO & LUMO

SNYW	E _{HOMO} (eV)	E _{LUMO} (eV)	BAND GAP (eV)
JNJ	-8,873	-0,353	8,52
GAL	-9,047	-0,883	8,164
HES	-9,037	-0,497	8,54
ISO	-8,902	-0,871	8,031
KAEL	-8,960	-0,888	8,072
LUT	-9,117	-0,950	8,167

Hasil penetapan energi HOMO dapat dilihat bahwa luteolin memiliki nilai yang memiliki nilai tertinggi yaitu JNJ7777120 (-8,873) dan yang paling rendah

luteolin (-9,117), sedangkan pada energi LUMO, nilai paling tinggi ditunjukkan oleh JNJ7777120 (-0,353) dan nilai terendah yaitu luteolin (-0,950).

Pemberian elektron pada suatu spesies yang paling mudah terjadi pada HOMO, sedangkan penerimaan elektron yang lain paling mudah terjadi pada LUMO. HOMO yang lebih tinggi memberikan kemampuan yang lebih kuat untuk memberikan elektron pada spesies lain. LUMO yang lebih rendah memberikan kemampuan yang lebih kuat untuk menerima elektron dari spesies lain. Pada umumnya energi HOMO dan LUMO dari obat berkaitan dengan reaktifitasnya terhadap situs aktif, ketika suatu molekul membentuk orbital ikatan yang baru, molekul dari senyawa obat yang memiliki energi tinggi cenderung membentuk orbital yang reaktif membentuk ikatan dengan reseptornya yang menghasilkan aktifitas biologis lebih besar, sedangkan untuk obat yang memiliki nilai yang memiliki energi rendah cenderung kurang stabil dan kurang reaktif terhadap reseptornya.

Maka apabila dilihat dari nilai-nilai di atas dapat disimpulkan bahwa JNJ7777120 memberikan aktifitas biologis lebih besar dibandingkan senyawa lainnya.

5. Optimasi Geometri

Optimasi geometri dilakukan terhadap obat-obat yang akan di-*docking* pada reseptor H₄R, proses ini penting untuk menyesuaikan kondisi dan bentuk dari struktur molekul obat sebenarnya, penentuan dilakukan dengan menggunakan pendekatan secara semi-empiris. Pada penerapannya ada beberapa metode semi-empiris, yaitu: AM1, PM3 dan MNDO.

Tabel 4. Hasil Optimasi Geometri

SYW	AM1	PM3	MNDO
	E (kcal/mol)	E (kcal/mol)	E (kcal/mol)
JNJ	-3625,1624	-3654,2797	-3625,0936
GAL	-3508,8285	-3518,8928	-3532,1568
HES	-4009,0892	-4015,4949	-4023,5711
ISO	-3985,2964	-3996,0201	-3985,2592
KAE	-3613,1143	-3623,4881	-3613,0868
LUT	-3614,9227	-3627,1072	-3614,7984

Hasil yang didapat semua metode semi-empiris dapat diterapkan pada seluruh senyawa. Dari hasil optimasi geometri dilihat dengan energi terendah yaitu metode semi empiris PM3 yang selanjutnya senyawa hasil optimasi geometri ini digunakan sebagai ligan pada tahapan *docking* terhadap reseptor.

6. Persiapan Reseptor Histamin H₄ (H₄R)

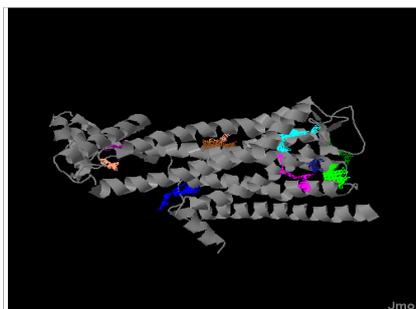
Dari hasil pencarian pustaka didapat beberapa struktur protein H₄R yang digunakan pula untuk penelitian oleh peneliti lain, sehingga data dapat dijadikan acuan untuk melakukan *docking* terhadap obat kedalam reseptornya. Struktur tiga dimensi reseptor H₄R didapatkan dari *GenBank* (<http://www.uniprot.org/uniprot/>) dengan kode Q9H3N8 dalam bentuk *file* pdb.

Struktur ini berupa residu-residu asam amino, dan bukan berupa struktur reseptor yang telah dikristalkan. Dari visualisasi dan telaah reseptor H₄R menggunakan *SwissPdbViewer*, diketahui bahwa susunan asam amino dari reseptor H₄R yang digunakan untuk penelitian kali ini tersusun dari asam amino ke 9-374, dengan susunan dari reseptor H₄R yang seharusnya adalah 390 asam amino.

Reseptor H₄R tidak memiliki atom hidrogen dan muatan parsial, oleh karena itu dengan menggunakan program *AutodockTools v4.2* (ADT) ditambahkan atom hidrogen dan muatan parsial *kollman*.

Setelah itu, dilakukan penentuan *site pocket* reseptor H₄R dengan menggunakan *Q Site Finder* (<http://www.modelling.leeds.ac.uk/qsitefinder/>). Didapatkan 10 site aktif yang diprediksikan menjadi tempat ikatan pada reseptor H₄R. menurut literature, agonis (histamin) H₄R berikatan dengan asam amino ASP94 dan GLU182. (Shahid *et al* 2012).

Gambar 1. Letak *Site Pocket* H4R didapatkan dari *Q Site Finder*



Dari hasil *Q Site Finder*, diketahui bahwa asam amino ASP94 dan GLU182, berada didalam Site 1, Site 5 dan Site 8.

7. Validasi

Validasi metode adalah suatu tindakan penilaian terhadap parameter tertentu, berdasarkan percobaan laboratorium, untuk membuktikan bahwa parameter tersebut memenuhi persyaratan untuk penggunaannya (Harmita, 2004). Validasi dilakukan untuk memastikan program *AutodockTools v4.2* telah terinstal dengan baik pada komputer yang digunakan.

Salah satu parameter analisis yang digunakan dalam validasi metode yaitu keseksamaan (*precision*), keseksamaan diukur sebagai simpangan baku atau simpangan baku relatif (koefisien variasi) (Harmita, 2004). Validasi kali ini dilakukan dengan menghitung simpangan baku energi bebas ikatan hasil simulasi dilakukan dengan menghitung simpangan baku energy bebas ikatan hasil simulasi *docking* menggunakan program *AutodockTools v 4.2*.

Tabel 5. Hasil Simulasi *Docking* Senyawa JNJ777120

Dari data pada tabel di atas, didapatkan simpangan baku energi bebas ikatan untuk senyawa JNJ777120 dari site 1-10 bernilai kecil, hal ini berarti perbedaan harga data yang satu dengan lainnya kecil sehingga semua data akan mengumpul di sekitar pusat data. Dari data tersebut

dapat disimpulkan bahwa dengan data mengumpul disekitar pusat maka akan menunjukkan perangkat lunak yang digunakan telah terinstall dengan baik pada komputer yang digunakan dan dianggap valid.

Hasil Simulasi *Docking*

Senyawa JNJ777120, galangin, hesperetin, isorhamnetin, kaempferol dan luteolin hasil optimasi geometri tersebut kemudian di-*docking* pada kantung ikatan reseptor H₄R pada masing-masing *site pocketnya* (site1-10). Hal ini dilakukan untuk mengetahui pola interaksi ikatan yang dibandingkan ikatan hidrogen dan ikatan *Van Der Waals* antara ligan dan reseptor.

Energi bebas ikatan semua senyawa pada reseptor H₄R bernilai negatif. Hal ini menunjukkan bahwa keenam senyawa mampu berinteraksi secara spontan dengan reseptor H₄R. Adapun hasil *docking* terbaik dari hasil simulasi *docking* senyawa JNJ777120, galangin, hesperetin, isorhamnetin, kaempferol dan luteolin dengan masing-masing *site pocket* pada reseptor H₄R yaitu terdapat pada *docking* dengan menggunakan site 1 pada reseptor H₄R dilihat dari energi bebas ikatan yang lebih rendah, nilai *Ki* yang lebih rendah, dan ikatan kimia yang lebih banyak dibandingkan dengan *site* lainnya.

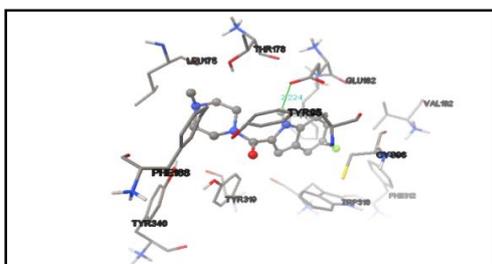
No.	Site 1 ED ^a	Site 2 ED ^a	Site 3 ED ^a	Site 4 ED ^a	Site 5 ED ^a	Site 6 ED ^a	Site 7 ED ^a	Site 8 ED ^a	Site 9 ED ^a	Site 10 ED ^a
1	-6,84	-5,69	-6,08	-3,5	-5,95	-3,79	-5,0	-5,57	-4,41	-4,79
2	-6,84	-5,69	-6,11	-3,51	-5,95	-3,79	-5,0	-5,57	-4,36	-4,78
3	-6,84	-5,69	-6,1	-3,47	-5,95	-3,79	-5,0	-5,57	-4,41	-4,79
4	-6,84	-5,68	-6,1	-3,47	-5,95	-3,79	-5,0	-5,57	-4,4	-4,79
5	-6,84	-5,69	-6,1	-3,5	-5,95	-3,79	-5,0	-5,57	-4,39	-4,78
6	-6,84	-5,69	-6,11	-3,51	-5,95	-3,78	-5,0	-5,57	-4,42	-4,78
7	-6,84	-5,69	-6,11	-3,47	-5,95	-3,77	-5,0	-5,57	-4,42	-4,78
8	-6,84	-5,69	-6,09	-3,5	-5,95	-3,79	-5,0	-5,57	-4,41	-4,78
9	-6,84	-5,69	-6,1	-3,51	-5,95	-3,79	-5,0	-5,57	-4,41	-4,78
10	-6,84	-5,69	-6,09	-3,47	-5,95	-3,78	-5,0	-5,57	-4,29	-4,78
SD	0	0,0032	0,0094	0,018	0	0,0070	0	0	0,0399	0,0048

Tabel 6. Top Score Hasil Docking Senyawa JNJ777120, Galangin, Hesperetin, Isorhamnetin, Kaempferol, dan Luteolin Terhadap Reseptor H₄R Pada Site 1

Keterangan: ^aEnergi Bebas Ikatan (Kkal/mol)
^bkonstanta Inhibisi (μM)
^cInteraksi Van Der Waals

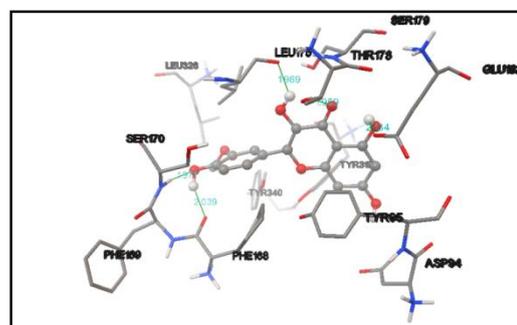
Dari hasil *docking* senyawa dengan site 1 dari reseptor H₄R, dapat dilihat bahwa JNJ777120 memiliki energi bebas ikatan paling rendah disusul dengan isorhamnetin, galangin, kaempferol, luteolin, dan hesperetin. Energi bebas pengikatan dapat mengindikasikan spontanitas reaksi. Semakin rendah hasil energi ikatan, dinyatakan lebih bagus dan interaksi ikatan itu yang paling disukai untuk terjadi. Dilihat dari data di atas, JNJ777120 memiliki energi ikatan terendah (-6.84 Kkal/mol) sehingga senyawa ini dinilai lebih baik dan paling mudah berinteraksi dengan reseptor H₄R.

Konstanta inhibisi merupakan kestabilan kompleks yang terbentuk antara protein dengan ligan. Nilai K_i merupakan analog dari nilai IC₅₀. Nilai K_i JNJ777120 adalah 9,62 yang menunjukkan bahwa dalam dosis rendah, senyawa JNJ777120 sudah dapat memberikan efek penghambatan kerja reseptor H₄R yang cukup besar.



Gambar 1. Hasil *docking* JNJ777120 – H₄R

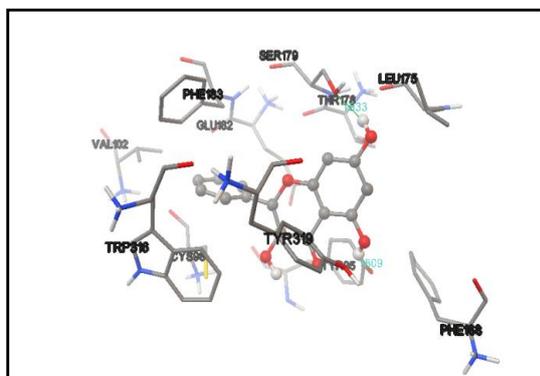
Menurut literatur, antagonis H₄R akan berinteraksi dengan asam amino ASP94 dan GLU182. Dari hasil *docking*, senyawa JNJ777120 membentuk ikatan hidrogen dengan GLU182 dan membentuk ikatan Van Der Waals dengan residu asam amino di sekitarnya. Ikatan vander Waals yang terbentuk dengan reseptor H₄R adalah TYR95, CYS98, VAL102, PHE168, LEU175, THR178, GLU182, PHE183, PHE312, TRP316, TYR319, dan TYR340.



Gambar 2. Hasil *docking* isorhamnetin – H₄R

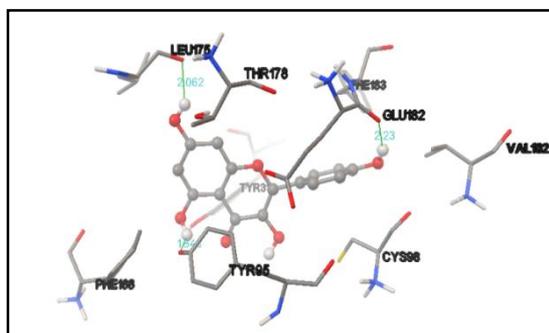
Senyawa isorhamnetin membentuk ikatan hidrogen dengan asam amino GLU182 (2,134Å), LEU175 (1,969Å), PHE168 (2,039Å), THR178 (1,959Å), dan SER170 (1,971Å). jarak ikatan yang terbentuk antara isorhamnetin dan reseptor H₄R masuk dalam rentang jarak ikatan yang baik (1,5 – 2,8Å). Selain berikatan hidrogen, senyawa isorhamnetin juga berikatan Van Der Waals dengan residu asam amino di sekitarnya. Ikatan Van Der Waals yang

terbentuk dengan reseptor H₄R adalah ASP94, TYR95, PHE169, SER179, TYR319, LEU326, dan TYR340. Adanya interaksi antara senyawa isorhamnetin dengan residu asam amino ASP94 dan GLU182 menunjukkan bahwa isorhamnetin dapat bertindak sebagai antagonis reseptor H₄R.



Gambar 3: Hasil *docking* galangin – H₄R

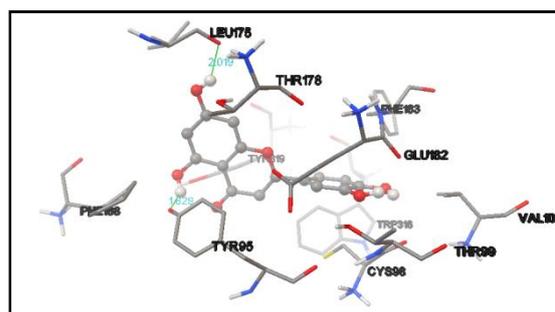
Interaksi senyawa galangin membentuk ikatan hidrogen dengan asam amino SER179 (1,933Å) dan TYR95 (1,809Å). Jarak ikatan yang terbentuk antara galangin dan reseptor H₄R masuk dalam rentang jarak ikatan yang baik. Selain berikatan hidrogen, senyawa galangin juga berikatan *Van Der Waals* dengan residu asam amino di sekitarnya. Ikatan *Van Der Waals* yang terbentuk dengan reseptor H₄R adalah CYS98, VAL102, PHE168, LEU175, THR178, GLU182, PHE183, TRP316, dan TYR319. Adanya interaksi antara senyawa galangin dengan residu asam amino GLU182 menunjukkan bahwa galangin dapat bertindak sebagai antagonis reseptor H₄R.



Gambar 4. Hasil *docking* kaempferol – H₄R

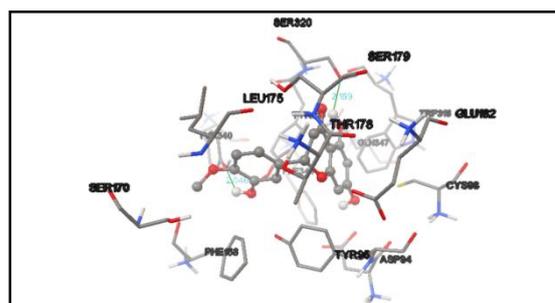
Interaksi senyawa kaempferol membentuk ikatan hidrogen dengan asam amino TYR95 (1,343Å),

LEU175 (2,062Å), dan GLU182 (2,23Å). Jarak ikatan yang terbentuk antara kaempferol dan reseptor H₄R masuk dalam rentang jarak ikatan yang baik. Selain berikatan hidrogen, senyawa kaempferol juga berikatan *Van Der Waals* dengan residu asam amino di sekitarnya. Ikatan *Van Der Waals* yang terbentuk dengan reseptor H₄R adalah CYS98, VAL102, PHE168, THR178, PHE183, dan TYR319. Adanya interaksi antara senyawa kaempferol dengan residu asam amino GLU182 menunjukkan bahwa kaempferol dapat bertindak sebagai antagonis reseptor H₄R.



Gambar 5. Hasil *docking* luteolin – H₄R

Interaksi senyawa luteolin membentuk ikatan hidrogen dengan asam amino LEU175 (2,019Å), dan TYR95 (1,829Å). Jarak ikatan yang terbentuk antara luteolin dan reseptor H₄R masuk dalam rentang jarak ikatan yang baik. Selain berikatan hidrogen, senyawa luteolin juga berikatan *Van Der Waals* dengan residu asam amino di sekitarnya. Ikatan *Van Der Waals* yang terbentuk dengan reseptor H₄R adalah TYR95, CYS98, THR99, VAL102, PHE168, LEU175, THR178, GLU182, PHE183, TRP316, dan TYR319. Adanya interaksi antara senyawa luteolin dengan residu asam amino GLU182 menunjukkan bahwa luteolin dapat bertindak sebagai antagonis reseptor H₄R.



Gambar 6. Hasil *docking* hesperetin – H₄R

Interaksi senyawa hesperetin membentuk ikatan hidrogen dengan asam amino TYR340 (2,046Å), dan SER320 (2,169Å). Jarak ikatan yang terbentuk antara hesperetin dan reseptor H₄R masuk dalam rentang jarak ikatan yang baik. Selain berikatan hidrogen, senyawa hesperetin juga berikatan *Van Der Waals* dengan residu asam amino di sekitarnya. Ikatan *Van Der Waals* yang terbentuk dengan reseptor H₄R adalah ASP94, LEU96, CYS 98, PHE168, SER170, LEU175, THR178, SER179, GLU182, TRP316, TYR319, SER320, TYR340, PHE344, dan GLN347. Adanya interaksi antara senyawa hesperetin dengan residu asam amino ASP94 dan GLU182 menunjukkan bahwa hesperetin dapat bertindak sebagai antagonis reseptor H₄R.

Dari hasil-hasil di atas, senyawa JNJ7777120 dinilai sebagai senyawa antagonis H₄R terbaik. Dilihat dari energi ikatannya yang terendah (-6,84 Kkal/mol) dan nilai *Ki* nya yang rendah (9,62µM)

Hasil Prediksi Toksisitas dengan *Toxtree prediction*

Dalam mendesain suatu obat, penentuan sifat toksikologi perlu diperhatikan. Hal ini bertujuan untuk memprediksi efek merugikan yang dapat ditimbulkan jika digunakan untuk obat terhadap tubuh. Penentuan sifat toksisitas dari molekul dengan ini dilakukan dengan menggunakan program *Toxtree*. Sifat toksikologi difokuskan pada *carcinogenicity* dan *mutagenicity* karena menjadi perhatian penting dalam kesehatan manusia dan berhubungan langsung struktur desain obat.

Dari hasil prediksi (Tabel 6.) menggunakan program *Toxtree* terlihat bahwa lima senyawa tidak memiliki *structural alert* (SAs) yang bersifat genotoxic maupun nongenotoxic dan juga dengan pendekatan (Q) SARs tidak bersifat *mutagen* maupun *carcinogen*. Sedangkan untuk satu senyawa yaitu isorhamnetin dari hasil prediksi diduga bersifat *carcinogen* yang terlihat dari hasil *Yes* pada *structural alert for nongenotoxic carcinogenicity* dan *No* pada *negative for nongenotoxic carcinogenicity*.

Tabel 6. Hasil Prediksi Toksisitas dengan *Toxtree prediction*

Structural alert (SAs)

ToxTree Toxicity Prediction	<i>Structural Alert for genotoxic carcinogenicity</i>	<i>Structural Alert for nongenotoxic carcinogenicity</i>
JNJ7777120	No	No
Galangin	No	No
Hesperetin	No	No
Isorhamnetin	No	Yes
Kaempferol	No	No
Luteolin	No	No

Pendekatan (Q)SARs

ToxTree Toxicity Prediction	<i>Potential carcinogen based on QSAR</i>	<i>Potential S. typhimurium TA100 mutagen based on QSAR</i>
JNJ7777120	No	No
Galangin	No	No
Hesperetin	No	No
Isorhamnetin	No	No
Kaempferol	No	No
Luteolin	No	No

Sifat *genotoxic / nongenotoxic*

ToxTree Toxicity Prediction	<i>Negative for genotoxic carcinogenicity</i>	<i>Negative for nongenotoxic carcinogenicity</i>
JNJ7777120	Yes	Yes
Galangin	Yes	Yes
Hesperetin	Yes	Yes
Isorhamnetin	Yes	No
Kaempferol	Yes	Yes
Luteolin	Yes	Yes

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil simpulan bahwa senyawa JNJ7777120 dinilai sebagai senyawa antagonis H₄R terbaik, tetapi senyawa hesperetin, luteolin, kaempferol, isorhamnetin, dan galangin juga diprediksi berpotensi sebagai antagonis reseptor histamin H₄. Senyawa isorhamnetin membentuk ikatan hidrogen dengan asam amino GLU182 (2,134Å), LEU175 (1,969Å), PHE168 (2,039Å), THR178 (1,959Å), dan SER170 (1,971Å), senyawa galangin membentuk ikatan hidrogen dengan asam amino SER179 (1,933Å) dan TYR95 (1,809Å),

senyawa kaempferol membentuk ikatan hidrogen dengan asam amino TYR95 (1,343Å), LEU175 (2,062Å), dan GLU182 (2,23Å), luteolin membentuk ikatan hidrogen dengan asam amino LEU175 (2,019Å), dan TYR95 (1,829Å), sedangkan senyawa hesperetin membentuk ikatan hidrogen dengan asam amino TYR340 (2,046Å), dan SER320 (2,169Å).

Keenam senyawa ini selanjutnya diuji sifat toksikologinya dengan menggunakan Toxtree, untuk menggambarkan *carcinogenicity* dan *mutagenicity*. Dari hasil analisis lima senyawa, yaitu JNJ7777120, galangin, hesperetin, kaempferol, dan luteolin tidak bersifat *carcinogen* dan *mutagen*. Sedangkan isorhamnetin diprediksi bersifat *carcinogen*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, Khoziah. (2011). *Study Interaksi Antara Kuersetin dan Kasistin dengan Reseptor H4R Sebagai Antiinflamasi Menggunakan Perangkat Lunak AutodockTools V3.05*. Jatinangor: Skripsi-S1 Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran.
- Ardiasyah, Ardi. (2010). *Pemodelan dan Analisis Struktur 3D Reseptor Histamin H4 (H4R) dengan Modeller dan Swiss-Model*. Jatinangor: Skripsi-S1 Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran.
- Arif, Ahmad., Mursyid., Purwanti, Ika., Masrufah, Anik., Ahmad, Nurudin., Widodo, Agus Eko. (2009). *Histamin dan Antihistamin*. STIKES PEMKAB JOMBANG. From: <http://www.scribd.com/doc/25354771/makalhanti-histamin> (June 7, 2012)
- Budapest, A Falus., Hungary. (2004). *HISTAMINE: "Biology and Medical Aspect"*. Spring MED Publishing.
- Cowden, Jeffery M., Riley, Jason P., Ma, Jing Ying., Thurmond, Robin L., Dunford, Paul J. (2010). *Histamine H4 receptor antagonism diminishes existing airway inflammation and dysfunction via modulation of Th2 cytokines*. Respiratory Research. From: <http://respiratory-research.com/content/pdf/1465-9921-11-86.pdf> (June 23, 2012)
- Cruse, Julius M., Lewis, Robert E. (2010). *Atlas of Immunology*, Third Edition. United States of America: CRC PRESS Taylor and Francis Group, LLC. 147-149. From: <http://uploaded.net/file/ym0lprup/Atlas.of.Immunology.Third.Edition.pdf> (January 05, 2013).
- Dunford, Paul J. O'Donnell, Niall., Riley, Jason P., Williams, Kacy N., Karlsson, Lars., and Thurmond, Robin L. (2006). *The Histamine H4 Receptor Mediates Allergic Airway Inflammation by Regulating the Activation of CD4+ T Cells*. Sandiego, CA, Johnson & Johnson Pharmaceutical Research: The American Association of Immunologists, Inc. 176: 7062. From: <http://www.jimmunol.org/content/176/11/7062.full.pdf+html> (June 6, 2012)
- Erejuwa, Omotayo O., Sulaiman, Siti A., Wahab, Mohd S. Ab. 2012. *Honey: A Novel Antioxidant*. Malaysia: Department of Pharmacology, School of Medical Sciences, Universiti Sains Malaysia. 17, 4403. From: www.mdpi.com/journal/molecules (January 5, 2013)
- Foreman, John C., Johansen, Torben. (2003). *TEXTBOOK of RECEPTOR PHARMACOLOGY*, Second Edition. London New York Washington, D.C.: CRC PRESS. 83. From: <http://warez.ag/download/warez-ag/a6014f23e41821c903ea/Textbook-of-Receptor-Pharmacology.html> (June 6, 2012)
- Hadisoesoilo, Soesilawati. (2001). *Keanekaragaman Spesies Lebah Madu Asli Indonesia (The Diversity of Indigenous Honey Bee Species of Indonesia)*. Indonesia: Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan dan Konservasi Alam, Bogor. 2 (no 1), 123-124. From: <http://biodiversitas.mipa.uns.ac.id/D/D0201/D020107.pdf> (December 26, 2012)
- Hill, S. J., Ganellim, C. R., Timmerman, H., Schwartz J. C., Shankley, N. P., Young, J. M., Schunack, W., Levi, R., and Haas, H. L. (1997). *International Union of Pharmacology. XIII. Classification of Histamine Receptors*. Germany: Pharmacological Reviews, The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics. 49, (no3), 254. From: <http://pharmrev.aspetjournals.org/content/49/3/253.full.pdf> (January 6, 2013).
- Janeway CA, Travers P, Walport M, Capra JD. *Immunobiology: the Immune System in Health and Disease*. 4th ed. London: Current Biology Publication; 1999. 602.
- Leurs, Rob., Chazot, Paul L., Fiona C

- Shenton., Lim, Herman D., and Esch, Iwan JP de. (2009). *Molecular and biochemical pharmacology of the histamine H4 receptor*. British Journal of Pharmacology. 157, 14–23. From: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1476-5381.2009.00250.x/pdf> (May 15, 2012)
- Levita, Jutti., Saptarini, Nyi Mekar., and Ardiansyah, Ardi. (2012). *Generating a 3D structure model of Histamine-4 receptor for Antiinflammatory Drug Design*. E3 Journal of Biotechnology and Pharmaceutical Research, Vol. 3(2). 22-27. From: http://www.e3journals.org/cms/articles/1334451396_Levita%20et%20al.pdf (May 13, 2012)
- Molan, Peter. (2011). *The Evidence and The Rationale for The Use of Honey as a Wound Dressing, Wound Practice and Research*. New Zeland: Department of Biological Sciences, University of Waikato. 19, 4. From: <http://researchcommons.waikato.ac.nz/bitstream/handle/10289/229/content.pdf?sequence=1> (January 6, 2013).
- Molan, Peter. (2012). *The anti-inflammatory activity of honey*. New Zeland. From: <http://www.watsonandson.co.nz/files/ANTI-INFLAMMATORY%20ACTIVITY%20OF%20HONEY.pdf> (December 26, 2012)
- Nogrady, Thomas. (1992). *KIMIA MEDISINAL, Pendekatan Biokimia, Terbitan Kedua*. Bandung: Institut Teknologi Bandung. 260.
- Nuryati, Sri. (2007). *status dan potensi pasar madu organis nasional dan internasional*. Bogor: Aliansi Organisas Indonesia. 5. From: http://www.organicindonesia.org/files/konsumen_2.pdf (December 26, 2012)
- Oda, Tamaki., Morikawa, Noriyuki., Saito, Yoko., Masuho, Yasuhiko., and Matsumoto, Shun-ichiro. (2000). *Molecular Cloning and Characterization of a Novel Type of Histamine Receptor Preferentially Expressed in Leukocytes*. Japan: THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, The American Society for Biochemistry and Molecular Biology, Inc. 275, 47, 36781-36786. From: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10973974> (June 23, 2012)
- Paul, William E. (2008). *Fundamental Immunology*, Sixth Edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 47. From: <http://bitshare.com/files/if1yy76r/Fundamental.Immunology.6th.edition.pdf.html> (January 5, 2013).
- Petrus, Karoline., Schwartz, Heidi., Sontag, Gehard. (2011). *Analysis of flavonoids in honey by HPLC coupled with coulometric electrode array detection and electrospray ionization mass spectrometry*. Austria: Anal Bional Chem. 400: 2555. From: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00216-010-4614-7#page-1> (January 5, 2013)
- Shahid, Mohammed., Khardori, Nancy., Khan, Rahat Ali., Tripathi, Trivendra. (2010). *Biomedical Aspects of Histamine*. New York: Springer. 86-88. From <http://warez.ag/download/warez-ag/ca597e985e799ffa03e9/Biomedical-Aspects-of-Histamine.html> (June 12, 2012)
- Song, Jason J., Salcido, Richard. (2011). *Use of Honey in Wound Care: An Update*. Pennsylvania: Clinical Management Extra. 24, (no 1), 41. From: http://journals.lww.com/aswcjournal/Fulltext/2011/01000/Use_of_Honey_in_Wound_Care_An_Update.11.aspx (January 6, 2013).
- Stark, Holger. (2007). *Histamine Receptors*. Biotrend reviews: BIOTREND Chemical AG. 01, 02. From: <http://www.biotrend.com> (December 18, 2012).
- Thurmond, Robin L., Desai, Pragnya J., J, Paul., Dunford, Leung, Wai-Ping Fung., Hofstra, Claudia L., Jiang, Wen., Nguyenm, Steven., Riley, Jason P., Sun, Siqian., Williams, Kacy N., Edwards, James P., and Karlsson, Lars. (2003). *A Potent and Selective Histamine H4 Receptor Antagonist with Anti-Inflammatory Properties*. Johnson & Johnson Pharmaceutical Research & Development, L.L.C., San Diego, California. The Journal of Phaemacology and Experimental Therapeutics. 309: 404–413. From: <http://jpet.aspetjournals.org/content/309/1/404.full.pdf+html> (June 23, 2012)