



Evaluasi In Silico Potensi Anti-inflamasi Fitokonstituen *Mangifera casturi* yang Diidentifikasi dengan GC–MS melalui *Molecular Docking*

In Silico Evaluation of Anti-Inflammatory Potential of Mangifera casturi Phytoconstituents Identified by GC–MS via Molecular Docking

Dharmastuti Cahya Fatmarahmi^{1,2*}, Dina Mutmainah³, Ilham Perdana⁴, Risa Umari Yuli Aliviyan⁵, Rahmawati⁶, Mifta Fajarwati²

ARTICLE INFO

Submitted: 14-01-2026

Revised: 20-03-2026

Accepted: 27-06-2026

¹Department of Pharmaceutical Chemistry, School of Pharmacy, Faculty of Medicine and Health Sciences, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Yogyakarta

²Halal Laboratory, Directorate of Innovation and Commercialization, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Yogyakarta

³Student of School of Pharmacy, Faculty of Medicine and Health Sciences, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Yogyakarta

⁴Laboratory assistant of School of Pharmacy, Faculty of Medicine and Health Sciences, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Yogyakarta

⁵Department of Biology Pharmacy, School of Pharmacy, Faculty of Medicine and Health Sciences, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Yogyakarta

⁶Faculty of Pharmacy, Universitas Muhammadiyah Banjarmasin, Banjarmasin

*Corresponding author (Dharmastuti Cahya)

Email: dharmastuti.cahya@umy.ac.id

ABSTRAK

Genus *Mangifera* telah dilaporkan memiliki aktivitas anti-inflamasi, meskipun penelitian mengenai *Mangifera casturi* masih terbatas. Penelitian ini bertujuan mengeksplorasi potensi anti-inflamasi *Mangifera casturi* dengan mengevaluasi kemampuannya menghambat enzim siklooksigenase (COX) melalui molecular docking senyawa-senyawa yang sebelumnya diidentifikasi dengan GC–MS dari aril dan kulitnya. Senyawa utama yang diuji meliputi 6-octadecenoic acid, spinacene, tetradecanoic acid, cis-vaccenic acid, dan trans-13-octadecenoic acid. Proses docking dilakukan menggunakan AutoDock Vina 4.2 dengan menggunakan protein yang mengandung enzim COX dan native ligand ibuprofen berkode PDB 1EQG dan 4PH9 sebagai target dan hasilnya dievaluasi berdasarkan energi ikat, ΔE , dan nilai RMSD. Spinacene dan 6-octadecenoic acid menunjukkan interaksi paling baik dengan COX-1 dan COX-2. Spinacene memiliki energi ikat -8.5276 kcal/mol, ΔE $-13,966$ eV, serta nilai RMSD masing-masing $1,373$ dan $1,316$ Å, sementara 6-octadecenoic acid menunjukkan energi ikat -5.3704 kcal/mol, ΔE $-13,587$ eV, dan nilai RMSD $1,766$ dan $1,471$ Å. Temuan ini menunjukkan bahwa spinacene dan 6-octadecenoic acid berpotensi menjanjikan sebagai kandidat anti-inflamasi.

Kata kunci: mangga kasturi, penghambat COX, penambatan molekul, metabolit sekunder

ABSTRACT

The *Mangifera* genus has been reported to exhibit anti-inflammatory activity, although studies on *Mangifera casturi* remain limited. This study aimed to explore the anti-inflammatory potential of *Mangifera casturi* by evaluating its ability to inhibit cyclooxygenase (COX) enzymes through molecular docking of compounds previously identified by GC–MS from the aril and rind. The major compounds examined included 6-octadecenoic acid, spinacene, tetradecanoic acid, cis-vaccenic acid, and trans-13-octadecenoic acid. Docking was performed using AutoDock Vina, and the results were assessed based on binding energy, ΔE , and RMSD values. Spinacene and 6-octadecenoic acid demonstrated the most favorable interactions with both COX-1 and COX-2. Spinacene showed binding energy of -8.5276 kcal/mol, ΔE of $-13,966$ eV, and RMSD values of $1,373$ and $1,316$ Å, while 6-octadecenoic acid exhibited binding energy of -5.3704 kcal/mol, ΔE of $-13,587$ eV, and RMSD values of $1,766$ and $1,471$ Å. These findings suggest that spinacene and 6-octadecenoic acid possess promising potential as anti-inflammatory candidates.

Key words: kasturi mango, COX inhibitor, molecular docking, GC-MS, secondary metabolite



1. PENDAHULUAN

Peradangan atau inflamasi adalah cara alami tubuh dalam mempertahankan kondisi fisiologis tubuh terhadap hal-hal berbahaya seperti infeksi, cedera, atau iritasi. Meskipun peradangan adalah cara tubuh untuk melindungi diri, peradangan dalam jangka waktu panjang dapat menyebabkan penyakit degeneratif, radang sendi, dan masalah metabolik. Saat ini, terapi inflamasi sebagian besar menggunakan obat antiinflamasi nonsteroid (OAINS), yang bekerja dengan memblokir enzim siklooksigenase (COX) (Nathan and Ding, 2010). Penggunaan OAINS dalam waktu yang lama sering dikaitkan dengan efek samping serius seperti iritasi lambung, masalah ginjal, dan masalah jantung. Pemilihan obat dengan efek samping lebih ringan menjadi salah satu pilihan untuk pengobatan inflamasi jangka panjang (Grosser *et al.*, 2017).

Keanekaragaman hayati negara Indonesia menduduki peringkat kedua terbesar di dunia setelah Brazil. Metabolit sekunder yang dihasilkan dari ragam hayati tersebut memiliki berbagai macam aktivitas salah satunya sebagai anti-inflamasi. Genus *Mangifera* diketahui memiliki aktivitas anti-inflamasi yang cukup poten. Berbagai spesies *Mangifera*, khususnya *Mangifera indica*, telah dilaporkan mengandung flavonoid, triterpenoid, polifenol, dan xanton yang memiliki aktivitas antiinflamasi. Senyawa metabolit sekunder lain pada *Mangifera* sp yang memiliki aktivitas anti-inflamasi adalah mangiferin, kuersetin, lupeol, beta-karoten, lutein, dan asam galat. Salah satu spesies yang belum terlalu banyak dilakukan penelitian terkait aktivitas biologinya dalam genus ini dan merupakan tumbuhan endemik di wilayah Indonesia khususnya Kalimantan Selatan adalah *Mangifera casturi* (*M. casturi*) (BAPPENAS, 2016).

Mangga kasturi memiliki karakteristik fitokimia yang berbeda dan unik. Tumbuhan ini memiliki status langka sehingga menjadikan penelitian terhadap spesies ini penting tidak hanya untuk pengembangan obat, tetapi juga untuk mendukung konservasi biodiversitas. Hasil analisis GC–MS dari ekstrak *M. casturi* menunjukkan adanya berbagai senyawa terpenoid, fenolik, dan ester yang diduga memiliki aktivitas farmakologis, termasuk antiinflamasi. Senyawa spesifik yang telah diteliti pada daging buah dan kulit *M. casturi* adalah *6-octadecenoic acid*, *spinacene*, *tetradecanoic acid*, *cis-vaccenic acid*, dan *trans-13-octadecenoic acid* (Zulfina *et al.* 2021). Namun, hingga saat ini belum ada kajian secara spesifik terkait evaluasi potensi interaksi senyawa yang telah teridentifikasi melalui GC–MS dengan target protein inflamasi.

Pendekatan *in silico* melalui *molecular docking* merupakan metode efisien untuk mengevaluasi potensi aktivitas biologis senyawa alami. Metode ini dapat memprediksi afinitas dan pola interaksi antara senyawa dengan target protein seperti COX-1, COX-2, 5-LOX, atau TNF- α . Data GC–MS dapat dimanfaatkan untuk docking sehingga dapat mengidentifikasi kandidat senyawa *M. casturi* yang memiliki aktivitas antiinflamasi paling menjanjikan. Pendekatan ini relevan bagi negara dengan biodiversitas besar seperti Indonesia karena memungkinkan skrining cepat terhadap banyak senyawa tanpa biaya penelitian *in vitro* atau *in vivo* yang tinggi (Ferreira *et al.* 2015).

Kelima senyawa yang teridentifikasi melalui GC–MS pada *M. casturi* dipilih sebagai ligan docking karena masing-masing memiliki indikasi aktivitas biologis yang relevan dengan inflamasi, namun belum pernah dikaji secara spesifik terhadap target protein inflamasi pada *M. casturi*. *Spinacene*, yang secara struktural identik dengan skualena, telah divalidasi secara komputasional memiliki efek antiinflamasi melalui pendekatan network pharmacology dan molecular docking, namun pada target non-klasik seperti CRHR1, EGFR, dan HIF1A, bukan pada COX-1, COX-2, yang menjadi fokus penelitian ini (Luke *et al.*, 2024).

Dengan demikian, penelitian ini merupakan kajian pertama yang menautkan profil GC–MS *M. casturi* dengan evaluasi *molecular docking* terhadap berbagai target inflamasi sekaligus, suatu pendekatan yang sejalan dengan strategi konservasi karena memungkinkan seleksi kandidat bioaktif tanpa harus mengeksploitasi biomassa tumbuhan endemik langka ini secara berlebihan. Penelitian ini penting dilakukan dengan tujuan untuk mengevaluasi potensi antiinflamasi fitokonstituen *M. casturi* yang telah diidentifikasi menggunakan GC–MS melalui pendekatan molecular docking dengan target protein enzim COX-1 dan COX-2. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah baru mengenai aktivitas farmakologis spesies endemik Indonesia, mendukung pemanfaatan dan konservasi biodiversitas lokal, serta menjadi dasar penelitian lanjutan dalam pengembangan kandidat obat antiinflamasi berbasis bahan alam.

2. METODE

Alat dan Material

Penelitian dilakukan dengan menggunakan perangkat keras Laptop bermerk Toshiba dengan Spesifikasi OS Windows 10, RAM 16GB, Processor Core I5 dan perangkat lunak AutoDock Vina 4.2, Discovery Studio dan Hyperchem 8.0. Protein enzim yang digunakan adalah 1EQG untuk COX1 dan 4PH9 untuk COX2 yang diambil dari protein data bank (PDB) pada <https://www.rcsb.org/>. Senyawa ligan uji yang digunakan bersal dari penelitian sebelumnya. Kelima senyawa tersebut adalah *6-octadecenoic acid*, *spinacene*, *tetradecanoic acid*, *cis-vaccenic acid*, dan *trans-13-octadecenoic acid* dicari kode SMILES dari PubChem. Ligan native yang digunakan adalah ibuprofen yang dipisahkan dari masing-masing protein enzim 1EQG dan 4PH9. Konfigurasi dilakukan dengan menggunakan 9 pose, exhaustiveness 8, titik tengah gridbox pada koordinat pusat x=19,303 y=14,877 z=68,001 dan ukuran gridbox 40x40x40 Å dengan jarak antar titik 0,375 Å.

Preparasi Docking

Preparasi *docking* dilakukan dengan mengunduh protein target 1EQG dan 4PH9 pada PDB dengan format *Legacy PDB Format*. Masing-masing protein dilakukan pemisahan terhadap ligan *native* dan molekul air menggunakan *Discovery Studio*. Hasil pemisahan berupa protein enzim dan ligan *native* yang telah bersih dan dilakukan penyimpanan dengan format PDB file. Selanjutnya dilakukan optimasi struktur pada ligan *native* dan ligan uji dengan menggunakan perangkat lunak Hyperchem 8.0 untuk menguji sifat fisikokimia.

Validasi Metode

Validasi metode docking molekuler dilakukan dengan melakukan penambatan kembali ligan *native* ibuprofen pada protein enzim target yang telah bersih dengan menggunakan perangkat lunak AutoDock dan AutoDock Vina. Metode dikatakan valid jika pada proses penambatan kembali ini menghasilkan nilai RMSD <2 Å.

Uji Docking Senyawa

Proses docking dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak AutoDock dan AutoDock Vina. Enzim target, senyawa uji dan Aplikasi AutoDock Vina berupa *vina*, *vina split* dan *vina license* disimpan pada satu folder yang sama. Dilakukan penambahan atom hidrogen dan muatan kollman pada protein enzim dan disimpan dengan format PDBQT. Preparasi ligan *native* dan uji dilakukan dilakukan dengan penambahan atom hidrogen dan muatan gasteiger. kemudian disimpan kedalam format PDBQT. Selanjutnya Protein enzim dan ligan *native* dengan format PDBQT dilakukan penambatan dengan ligan sebagai posisi center. Kemudian catat nilai gridbox poin x,y,z center x, center y, center z dan akurasi yang muncul dan simpan perubahan pada grid box. Masukkan semua data *gridbox* dalam file konfigurasi conf.txt. Setelah semua data didapatkan, jalankan AutoDock Vina yang berada dalam satu folder dengan protein enzim target dan ligan uji menggunakan Command Prompt. Simpan hasil analisis afinitas ikatan kedalam file log.txt. Kemudian jalankan Vina Split untuk memisahkan ligan-ligan hasil Analisa. Ligan terbaik dari hasil analisa dilakukan visualisasi secara 2D dengan perangkat lunak Discovery Studio.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Molecular Docking

Preparasi Protein Target

Preparasi dilakukan dengan mengunduh protein target dengan kode PDB 1EQG dan 4PH9 pada website RCSB Protein Data Bank dengan format .pdb. Pemilihan kedua kode tersebut didasarkan pada struktur tiga dimensi dalam bentuk kompleks dengan ligan *native* (Bittencourt *et al.*, 2019; Shcherbyna *et al.*, 2023). Pada kode protein 1EQG terdiri dari makromolekul *Prostaglandin H2 Synthase-1* (COX1) dan 4 small molecule ligan *protoporphyrin IX*, *octyl beta-D-glucopyranoside*, *2-acetamido-2-deoxy-beta-D-glucopyranose* dan *ibuprofen*. Sedangkan pada kode protein 4PH9 terdiri dari makromolekul *Prostaglandin H2 Synthase-2* (COX2) dan 6 small molecule ligan *protoporphyrin IX*, *octyl beta-D-glucopyranoside*, *2-acetamido-2-deoxy-beta-D-glucopyranose*, *ibuprofen*, *acrylic acid*, *1,2-ethanediol*. Penentuan struktur kristal tiga dimensi dari kode 1EQG dan 4PH9 berasal

dari publikasi pada tahun 2001 menggunakan metode Difraksi X-Ray dengan resolusi 2,61 Å dan 1,81 Å (Loll et al., 2001; Orlando et al., 2015). Ibuprofen yang diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi golongan OAINS digunakan sebagai ligan *native* karena berikatan pada masing-masing makromolekul COX1 dan COX2 dari protein yang telah diunduh.

Validasi Metode Docking

Parameter evaluasi untuk menganalisis hasil validasi metode docking adalah nilai RMSD. Penentuan nilai RMSD digunakan untuk menilai keberhasilan prediksi mode pengikatan, sehingga menjadi parameter penting dalam melakukan verifikasi proses *docking*. Validasi metode docking dilakukan melalui proses *redocking* ligan *native* pada masing-masing enzim COX-1 dan COX-2. Parameter grid disusun berdasarkan posisi ligan asli pada struktur kristal PDB agar proses prediksi ikatan berjalan secara akurat. Pada enzim COX-1 (PDB ID: 1EQG), grid box ditetapkan sebesar $40 \times 40 \times 40$ dengan grid spacing 0,375 Å dan pusat grid pada koordinat (X = 68,328, Y = 22,230, Z = 189,725). Hasil *redocking* menghasilkan nilai RMSD sebesar 1,310 Å, yang berada di bawah batas standar validasi ($< 2,0$ Å) (Ferreira et al., 2015). Nilai ini menunjukkan bahwa metode dan parameter docking mampu mereproduksi posisi ligan *native* dengan baik sehingga prosedur docking dinyatakan valid untuk digunakan pada senyawa uji. Pada enzim COX-2 (PDB ID: 4PH9), grid box yang digunakan adalah $40 \times 40 \times 40$ dengan grid spacing 0,375 Å dan pusat grid pada koordinat (X = 19,303, Y = 14,877, Z = 68,001) (Morris et al., 2009). Proses *redocking* menghasilkan RMSD sebesar 0,890 Å, menunjukkan tingkat kesesuaian yang sangat tinggi antara pose ligan hasil docking dengan pose ligan asli hasil X-ray. Nilai RMSD di bawah 1 Å mengindikasikan bahwa parameter docking sangat akurat dan dapat diandalkan dalam memprediksi interaksi ligan–enzim. Secara keseluruhan, nilai RMSD untuk kedua enzim berada dalam rentang yang diterima secara internasional ($< 2,0$ Å), sehingga proses validasi docking dinyatakan berhasil. Hasil tersebut dilihat pada Gambar 1., Tabel 1., dan Tabel 2. Dengan demikian, metode dan parameter yang digunakan layak diterapkan untuk analisis docking senyawa-senyawa dari hasil GC-MS *M. casturi* dalam mengevaluasi potensinya sebagai inhibitor COX-1 dan COX-2.



Gambar 1. Visualisasi *Redocking* Ibuprofen dengan (A) COX-1 dan (B) COX-2

Tabel 1. Parameter Validasi Enzim COX-1

Grid Box		Grid Center		Grid Spacing	RMSD
X	40	X	68,328	0,375	1,310
Y	40	Y	22,230		
Z	40	Z	189,725		

Tabel 2. Parameter Validasi Enzim COX-2

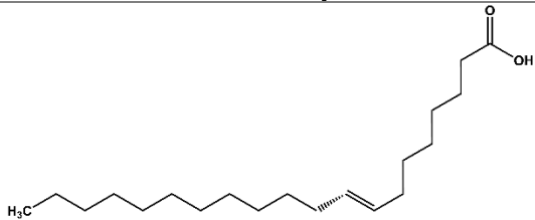
Grid Box		Grid Center		Grid Spacing	RMSD
X	40	X	19,303	0,375	0,890
Y	40	Y	14,877		
Z	40	Z	68,001		

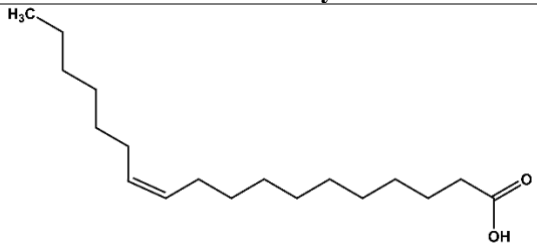
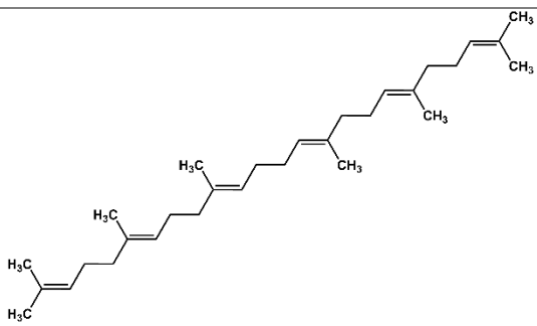
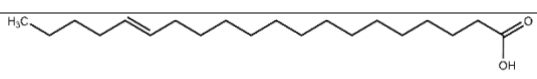
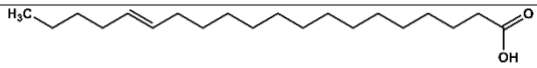
Optimasi Geometrik

Penelitian ini mengevaluasi lima senyawa spesifik hasil analisis GC-MS dari daging buah dan kulit mangga kasturi. Kelima senyawa tersebut adalah *6-octadecenoic acid*, *spinacene*, *tetradecanoic acid*, *cis-vaccenic acid*, dan *trans-13-octadecenoic acid*. Tabel 3. menunjukkan gambar struktur dari ligan yang digunakan. Kelima senyawa uji tersebut dibuat dalam bentuk 2D dan 3D terlebih dahulu dan selanjutnya dilakukan optimasi geometri untuk mengetahui karakteristik fisikokimianya. Adanya Aturan Lipinski atau yang sering disebut *Lipinski's Rule of Five* yang mengatur terkait kelayakan suatu senyawa berdasarkan aktivitas biologi dan farmakologi dengan sifat tertentu dapat diterima oleh tubuh manusia. Parameter ini juga menggambarkan terkait proses farmakokinetika obat yaitu penyerapan, distribusi, metabolisme, dan ekskresi dalam tubuh (Shivanika *et al.*, 2020; Tegegn *et al.*, 2022).

Hasil dari Aturan Lipinski dari kelima ligan tersebut dapat dilihat pada Tabel 4. Dua senyawa uji memenuhi keseluruhan Aturan Lipinski, sedangkan tiga lainnya gagal memenuhi aturan Lipinski dikarenakan nilai LogP lebih dari lima yang menyebabkan ketiga senyawa tersebut terlalu lipofil sehingga berpotensi memiliki kelarutan rendah, permeabilitas tidak stabil, dan bioavailabilitas sediaan oral yang rendah. Tingginya nilai LogP belum tentu mempengaruhi potensi aktivitas biologis dari senyawa. Hasil optimasi geometri kelima ligan uji dapat dilihat pada Tabel 5. Kelima ligan uji menunjukkan potensi sebagai inhibitor COX-1 berdasarkan hasil redocking. Namun, pada COX-2 hanya *spinacene* dan *6-octadecenoic acid* yang memenuhi kriteria validasi berdasarkan nilai RMSD. Tiga senyawa lainnya yang merupakan asam lemak dengan rantai hidrokarbon panjang dan fleksibilitas konformasi tinggi menunjukkan afinitas yang kurang baik terhadap COX-2 berdasarkan hasil molecular docking, yang tercermin dari nilai RMSD yang lebih tinggi akibat terbentuknya berbagai kemungkinan pose ikatan di dalam situs aktif. Selain itu, pocket COX-2 memiliki geometri yang lebih sempit dan kompleks serta dirancang untuk mengakomodasi ligan aromatik yang rigid, seperti NSAID, sehingga struktur linear asam lemak tidak sesuai secara sterik sehingga ketiga senyawa ligan uji dengan nilai RMSD > 2 Å tidak memiliki potensi untuk dijadikan penghambat COX-2. Selain nilai RMSD, pada tabel 5 juga memperlihatkan hasil dari energi gap (ΔE) yang didapat dari selisih antara energi LUMO dan HOMO. Nilai tersebut menggambarkan kemudahan suatu elektron dalam molekul untuk mengalami perpindahan. Semakin kecil nilai energi gap ini menunjukkan semakin reaktif suatu senyawa sehingga energi yang diperlukan elektron untuk mengalami eksitasi semakin rendah, sebaliknya jika nilai energi gap besar maka semakin stabil senyawa tersebut. Nilai ΔE seluruh senyawa berada pada rentang 13,587–13,966 eV yang menunjukkan kestabilan elektronik yang tinggi dan kecenderungan reaktivitas yang rendah. Meskipun demikian, dalam studi penambatan molekul, afinitas pengikatan tidak hanya dipengaruhi oleh reaktivitas elektronik, tetapi juga oleh faktor sterik, lipofilisitas, fleksibilitas molekul, dan kesesuaian orientasi ligan pada kantong aktif protein (Mohamed *et al.*, 2025; Tsantili-Kakoulidou *et al.*, 2021; Chmiel *et al.*, 2019).

Tabel 3. Ligan Uji

Nomor	Nama Senyawa	Struktur Senyawa
1	<i>6-octadecenoic acid</i>	

Nomor	Nama Senyawa	Struktur Senyawa
2	<i>cis-vaccenic acid</i>	
3	<i>Spinacene</i>	
4	<i>Tetradecanoic acid</i>	
5	<i>trans-13-octadecenoic acid</i>	

Tabel 4. Parameter Fisikokimia Berdasarkan Aturan Lipinski

Nama Senyawa	MW (g/mol)	LogP	HBD	HBA	Kelayakan
Ibuprofen	206,290	3,073	1	2	Layak
<i>6-octadecenoic acid</i>	268,441	5,718	1	2	Tidak layak
<i>cis-vaccenic acid</i>	240,387	4,938	1	2	Layak
<i>Spinacene</i>	384,692	9,616	0	0	Tidak layak
<i>Tetradecanoic acid</i>	200,322	3,992	1	2	Layak
<i>trans-13-octadecenoic acid</i>	254,414	5,328	1	2	Tidak layak

Tabel 5. Hasil Optimasi Geometri dan Parameter Docking Senyawa Uji

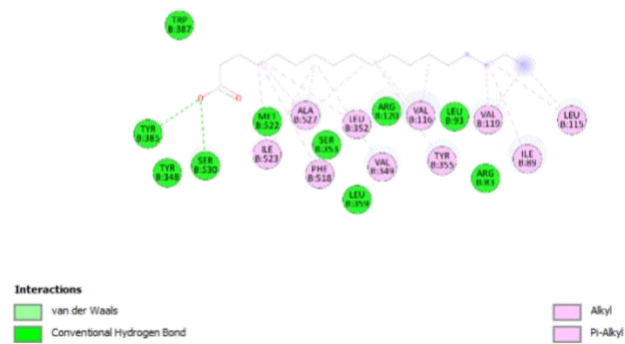
Nama Senyawa	Energi Ikatan (kcal/mol)	HOMO (eV)	LUMO (eV)	ΔE (eV)	RMSD	
					COX-1	COX-2
<i>6-octadecenoic acid</i>	-5,370	-10,820	2,767	13,587	1,766	1,471
<i>cis-vaccenic acid</i>	-5,370	-10,820	2,767	13,587	1,370	2,701
<i>Spinacene</i>	-8,527	-10,854	3,112	13,966	1,373	1,316
<i>Tetradecanoic acid</i>	-4,248	-10,820	2,768	13,588	1,362	18,529
<i>trans-13-octadecenoic acid</i>	-5,370	-10,820	2,767	13,587	1,331	3,748

Uji Docking Senyawa dan Interaksi Senyawa

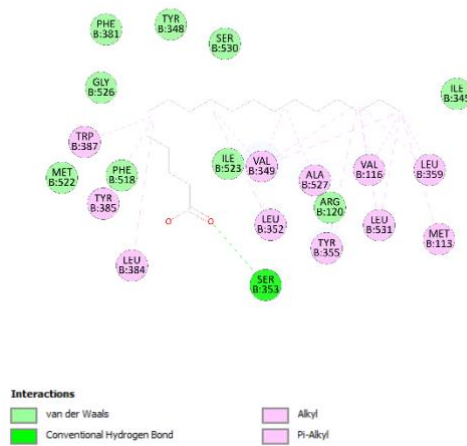
Pendekatan *ligand-centered docking* digunakan pada penelitian ini karena grid box difokuskan pada daerah ikatan yang telah dipetakan oleh ligan native hasil struktur kristal X-ray. Ligan sebagai pusat orientasi grid, algoritma docking mampu mengeksplorasi pose ligan uji dalam ruang ikatan yang secara biologis relevan, sehingga meningkatkan probabilitas menghasilkan pose yang akurat. Strategi ini terutama efektif pada enzim dengan pocket yang terspesialisasi seperti COX-1 dan COX-2 yang memiliki kanal hidrofobik panjang dan residu penentu interaksi seperti Arg120, Tyr355, dan Tyr385 (Salmaso & Moro, 2018). Gambar 2 dan Gambar 3. menunjukkan visualisasi interaksi ligan dengan enzim siklooksigenase. Ligan dengan fleksibilitas tinggi atau bentuk linier panjang, seperti asam lemak, cenderung mengalami deviasi pose yang besar karena tidak memiliki fitur struktural rigid maupun interaksi spesifik yang diperlukan untuk stabilisasi pose, sehingga RMSD *redocking* dapat meningkat dan menurunkan keandalan prediksi. Dengan demikian, *ligand-centered docking* tidak hanya memastikan proses docking tetap berada dalam area binding yang benar, tetapi juga menjadi dasar penilaian objektif dalam menentukan kompatibilitas struktural ligan untuk menjadi kandidat inhibitor yang potensial (Kwon *et al.*, 2023; Zhu *et al.*, 2024).

Hasil menunjukkan senyawa *Spinacene* memiliki nilai energi ikat paling rendah diantara keempat senyawa lainnya dan dibandingkan dengan ikatan ibuprofen pada COX-1 (1,524) dan COX-2 (1,609) dan nilai RMSD yang sesuai dengan persyaratan. Senyawa kedua yang memenuhi persyaratan untuk menjadi kandidat potensial adalah *6-octadecenoic acid*. Kedua ligan tersebut menunjukkan kestabilan ikatan dengan enzim. Visualisasi hasil interaksi menunjukkan asam amino esensial yang terkait dengan enzim COX adalah Arg120, Tyr355, Tyr385, dan Ser530 (Rouzer & Marnett, 2020; Malkowski *et al.*, 2022). Interaksi inhibitor pada enzim COX umumnya dikendalikan oleh gugus karboksilat yang mampu membentuk jaringan ikatan penting di sekitar pintu masuk kanal aktif. Ibuprofen sebagai inhibitor klasik memiliki gugus karboksilat yang berperan membentuk dua ikatan hidrogen dengan residu Arg-120, disertai pembentukan ikatan garam (*salt bridge*) yang membantu mengunci posisi ligan pada entrance pocket. Selain itu, gugus hidroksil fenolik pada beberapa inhibitor aromatik juga dapat membentuk ikatan hidrogen tambahan dengan Tyr-355, sehingga menstabilkan orientasi ligan sebelum memasuki kanal hidrofobik COX. Pola interaksi ini menjadi acuan dalam menilai validitas pengikatan ligan uji (Orlando *et al.*, 2015; Bergman *et al.*, 2017).

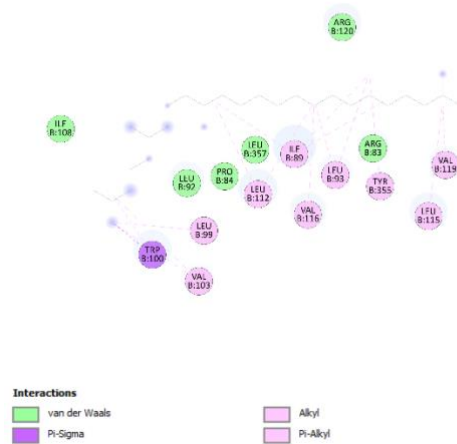
Penelitian ini, ligan berbasis asam lemak menunjukkan keterbatasan karena hanya mengandalkan satu gugus karboksilat tanpa adanya struktur aromatik yang mendukung pembentukan interaksi spesifik pada Arg-120 atau Tyr-355. Akibatnya, ikatan hidrogen yang terbentuk lebih sedikit dan orientasi ligan cenderung bergeser di dalam cavity, tercermin dari tingginya nilai RMSD pada sebagian besar asam lemak, terutama pada COX-2. Sebaliknya, ligan seperti *spinacene* yang memiliki struktur lebih rigid menunjukkan interaksi yang lebih stabil dan pose pengikatan yang lebih konsisten (Sharma *et al.*, 2021). Oleh karena itu, keberhasilan inhibitor COX sangat dipengaruhi oleh kemampuan gugus karboksilat dan elemen struktural pendukung lainnya untuk membentuk interaksi kunci dengan Arg-120 dan Tyr-355, yang menjadi ciri khas mekanisme penghambatan pada enzim COX. Aplikasi Hyperchem 8.0 merupakan aplikasi generasi lama dan penggunaan metode semi-empirik PM3 membuat penelitian ini memiliki keterbatasan, yaitu metode kuantum pada aplikasi ini terbatas sehingga kecenderungan *energy gap* yang melebihi estimasi antara celah HOMO-LUMO. Penggunaan metode ini hanya sebatas uji pendahuluan sebagai dasar untuk dilakukan pengujian DFT (*Density Functional Theory*) yang lebih modern (Steward, 2007). Keterbatasan simulasi dengan pendekatan *rigid receptor docking*, di mana struktur protein dianggap berada dalam kondisi statis selama proses penambatan adalah belum sepenuhnya fleksibilitas residu asam amino dan perubahan konformasi protein yang dapat terjadi secara dinamis pada kondisi biologis dapat tergambarkan. Akibatnya, afinitas dan pola interaksi yang diperoleh mungkin berbeda dari kondisi sebenarnya apabila. Maka dari itu, pengujian selanjutnya dapat mempertimbangkan fleksibilitas reseptor melalui metode *flexible receptor docking* atau simulasi dinamika molekuler (*molecular dynamics simulation*) (Ferreira *et al.*, 2015). Keberhasilan *Spinacene* dan *6-octadecenoic acid* pada penelusuran aktivitas inhibitor COX melalui metode *molecular docking* belum dapat dipastikan memiliki aktivitas farmakologi terhadap anti-inflamasi sehingga masih dibutuhkan studi lanjutan secara *in vitro* dan *in vivo* untuk memastikan aktivitas farmakologi dari kedua senyawa tersebut.



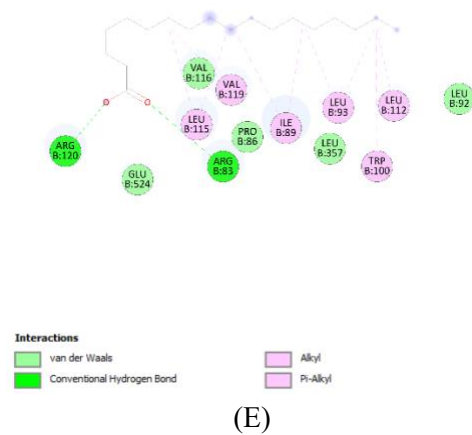
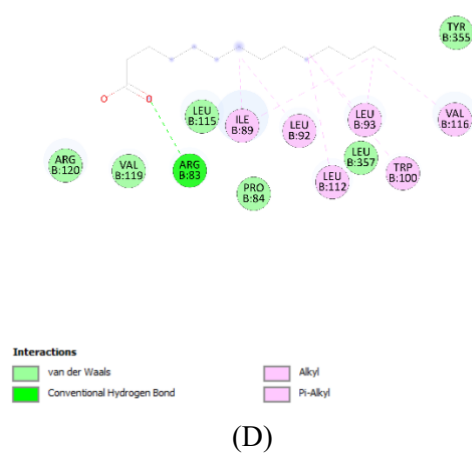
(A)



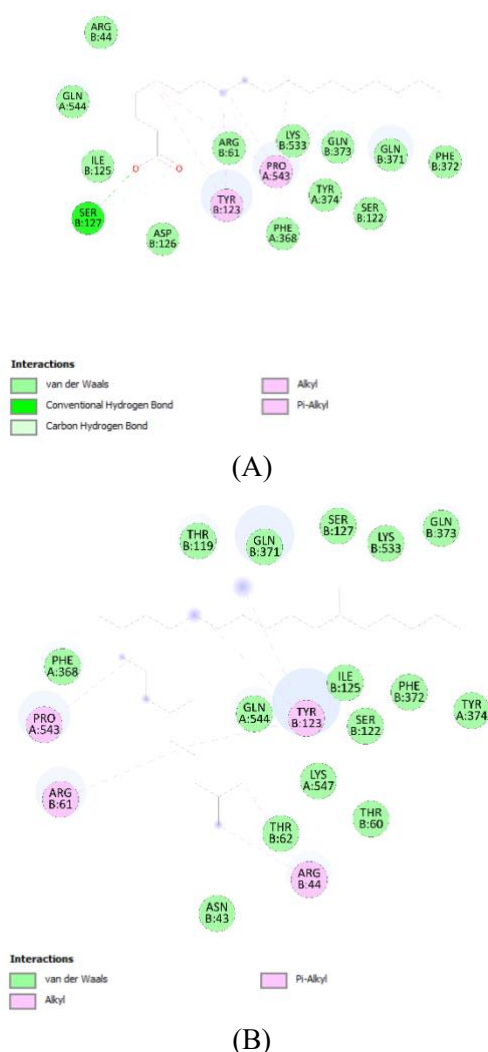
(B)



(C)



Gambar 2. Visualisasi interaksi ligan dengan enzim COX-1. *6-octadecenoic acid* (A), *cis-vaccenic acid* (B), *Spinacene* (C), *Tetradecanoic acid* (D), dan *trans-13-octadecenoic acid* (E)



Gambar 3. Visualisasi interaksi ligan dan COX-2. *6-octadecenoic acid* (A) dan *Spinacene* (B)

4. KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa senyawa hasil GC–MS *Mangifera casturi* memiliki potensi interaksi dengan enzim COX melalui kombinasi analisis optimasi geometri, HOMO–LUMO, dan *molecular docking*. *Spinacene* menunjukkan afinitas ikatan yang paling baik berdasarkan hasil *molecular docking* sehingga layak dipertimbangkan sebagai kandidat untuk penelitian lanjutan karena memiliki energi pengikatan paling negatif, stabilitas pose yang baik ($\text{RMSD} < 2 \text{ \AA}$), serta interaksi hidrofobik yang luas di sepanjang kanal aktif COX, hasil analisis tersebut disusul dengan senyawa *6-octadecenoic acid* yang berpotensi dapat dikembangkan menjadi agen antiinflamasi. Penelitian lanjutan seperti *molecular dynamic* dan uji in vitro disarankan untuk memastikan aktivitas farmakologis dari kedua senyawa potensial.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Seluruh penulis berterima kasih kepada hibah internal Universitas Muhammadiyah Yogyakarta dengan nomor keputusan 18/R-LRI/I/2025.

6. DAFTAR PUSTAKA

- BAPPENAS. (2016). *Indonesia Biodiversity Strategy and Action Plan*.
- Bergman, M., Levin, E., & Marnett, L. J. (2017). Mechanism-based inhibition of cyclooxygenases: The role of carboxylate interactions in NSAID binding. *Journal of Biological Chemistry*, 292(5), 2019–2030.

- Chmiel, T., Mieszkowska, A., Kempieńska-Kupczyk, D., Kot-Wasik, A., Mazerska, Z., & Namieśnik, J. (2019). The impact of lipophilicity on environmental processes, drug delivery and bioavailability of food components. *Microchemical Journal*, 146, 393–406.
- Ferreira, L. G., Dos Santos, R. N., Oliva, G., & Andricopulo, A. D. (2015). Molecular docking and structure-based drug design strategies. *Molecules*, 20(7), 13384–13421.
- Grosser, T., Ricciotti, E., & Fitzgerald, G. A. (2017). The cardiovascular pharmacology of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Trends in Pharmacological Sciences*, 38(8), 733–748.
- Kwon, S., et al. (2023). Structure alignment of ligands considering full flexibility improves docking accuracy significantly. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 120, 108271.
- Loll, P. J., Selinsky, B. S., Gupta, K., & Sharkey, C. T. (2001). The 2.6 Å model of ovine COX-1 complexed with ibuprofen. *Biochemistry*, 40(2), 517–526.
- Luke, S. S., Raj, M. N., Ramesh, S., et al. (2024). Network pharmacology prediction and molecular docking-based strategy to explore the potential mechanism of squalene against inflammation. *In Silico Pharmacology*, 12(1), 44.
- Malkowski, M. G., Orlando, B. J., & Lucido, M. J. (2022). Structural insights into cyclooxygenase catalysis and inhibition. *Annual Review of Biochemistry*, 91, 41–67.
- Mohamed, A., Visco, D. P., Jr., Breimaier, K., & Bastidas, D. M. (2025). Effect of molecular structure on the B3LYP-computed HOMO–LUMO gap: A structure–property relationship using atomic signatures. *ACS Omega*, 10(3), 2799–2808.
- Morris, G. M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S., & Olson, A. J. (2009). AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*, 30(16), 2785–2791.
- Nathan, C., & Ding, A. (2010). Nonresolving inflammation. *Cell*, 140(6), 871–882.
- Orlando, B. J., Lucido, M. J., & Malkowski, M. G. (2015). The structure of ibuprofen bound to cyclooxygenase-2. *Journal of Structural Biology*, 189(1), 62–66.
- Rouzer, C. A., & Marnett, L. J. (2020). Cyclooxygenases: Structural determinants of substrate and inhibitor selectivity. *Chemical Reviews*, 120(13), 7592–7641.
- Salmaso, V., & Moro, S. (2018). Bridging molecular docking to molecular dynamics in exploring ligand–protein recognition process: An overview. *Frontiers in Pharmacology*, 9, 923.
- Sharma, N., et al. (2021). Molecular docking and interaction analysis of natural anti-inflammatory compounds targeting COX-1 and COX-2 active sites. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 39(18), 6823–6835.
- Shivanika, C., et al. (2020). Molecular docking and dynamics simulations in the early stages of antiviral drug discovery: A case study. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 18, 1521–1532.
- Stewart, J. J. P. (2007). Optimization of parameters for semiempirical methods V: Modification of NDDO approximations and application to 70 elements. *Journal of Molecular Modeling*, 13(12), 1173–1213.
- Tegegn, G., et al. (2022). Pharmacokinetics, drug-likeness, and bioavailability assessment of novel heterocyclic derivatives through in silico analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 210, 114596.
- Tsantili-Kakoulidou, A., & Demopoulos, V. J. (2021). Drug-like properties and fraction lipophilicity index as a combined metric. *ADMET and DMPK*, 9(3), 177–190.
- Zhu, J., Gu, Z., Pei, J., & Lai, L. (2024). DiffBindFR: An SE(3)-equivariant network for flexible protein–ligand docking. *Chemical Science*, 15(21), 7926–7942.
- Zulfina, S., Fathoni, M. A. N., & Poerwanto, R. (2021). Characterization of secondary metabolites in kasturi mango (*Mangifera casturi*) using gas chromatography–mass spectrometry. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 948, 012059.