

PENAPISAN SENYAWA DARI REMPAH-REMPAH KHAS INDONESIA TERHADAP MMP9 DAN TNF α SEBAGAI TARGET PENYEMBUHAN LUKA DIABETES DENGAN METODE PENAMBATAN MOLEKUL

Michael Resta Surya Yanuar^{1*}, Albert Raharja², Rollando Rollando¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Ma Chung, Villa Puncak Tidar N-1, Malang, Indonesia, 65151

²Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma, Kampus III Paingan, Yogyakarta, Indonesia, 55282

Korespondensi: michael.resta@machung.ac.id

ABSTRAK

Pada luka diabetes, kadar TNF α meningkat dan menginduksi sekresi MMP9 secara berlebihan sehingga meningkatkan laju degradasi ECM. Hal ini beresiko menyebabkan luka kronis yang tak kunjung sembuh dan kemungkinan terjadinya infeksi. Oleh karena itu peningkatan proses penyembuhan luka menjadi sangat penting, salah satunya dengan menghambat aktivitas MMP9 dan TNF α . Bahan alam terutama rempah-rempah khas Indonesia dipilih karena memiliki efek samping yang minimal dan ketersediaannya melimpah. Tujuan dari penelitian ini adalah skrining aktivitas konstituen utama dalam rempah-rempah khas Indonesia terhadap MMP9 dan TNF- α dengan metode penambatan molekul secara *in silico*. Dari skrining terhadap 106 senyawa diperoleh hasil sebanyak 4 senyawa yang memiliki energi ikatan terendah pada kedua protein yaitu *hinokinin*, *procyanidin*, *xanthorrhizol*, *cubebin*, dan *rosmarinic acid* yang menunjukkan potensi untuk menghambat kedua protein tersebut sekaligus. Terlebih lagi, *procyanidin* memiliki energi ikatan yang lebih rendah dibandingkan ligan natif masing-masing protein (-9,2 kkal/mol terhadap MMP9 dan -9,1 kkal/mol terhadap TNF α) dengan nilai K_i sebesar 0,180 μ M dan 0,213 μ M secara berturut-turut. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa *procyanidin* merupakan kandidat yang paling menjanjikan sebagai agen terapeutik dalam penyembuhan luka pada pasien diabetes melitus.

Kata kunci: Luka diabetes; Rempah-rempah; *in silico*; MMP9; TNF α

ABSTRACT

*In diabetic wounds, TNF α levels increase and induce excessive secretion of MMP-9, thereby increasing the rate of ECM degradation. This poses a risk of chronic wounds that fail to heal and may lead to infections. Hence, enhancing the wound healing process is crucial, one of which is by inhibiting the activity of MMP9 and TNF α . Natural ingredients, especially Indonesian spices, were chosen due to their minimal side effects and abundantly available. The aim of this study is to screen the activity of the main constituents in Indonesian spices against MMP9 and TNF α using the *in silico* molecular docking method. From the screening of 106 compounds, 4 compounds with the lowest binding energy to both proteins were obtained: *hinokinin*; *procyanidin*; *cubebin*; and *rosmarinic acid*, indicating their potential to simultaneously inhibit both proteins. Furthermore, *procyanidin* exhibits a lower binding energy compared to the native ligands of each protein (-9,2 kkal/mol for MMP9 and -9,1 kkal/mol for TNF α) with K_i values of 0,180 μ M and 0,213 μ M respectively. It can be concluded that *procyanidin* is the most promising candidate as a therapeutic agent for wound healing in diabetes mellitus patients.*

Keywords: Diabetic wounds; Spices; in silico; MMP9; TNF α

PENDAHULUAN

International Diabetes Federation menyatakan bahwa Indonesia berada di peringkat ketujuh sebagai negara dengan jumlah penderita tertinggi pada tahun 2019, yaitu sebesar 10,7 juta [1]. Berdasarkan hasil Riskesdas RI 2018 diketahui bahwa Jawa Timur merupakan provinsi dengan prevalensi tertinggi kelima di Indonesia dengan angka sebesar 2,6% [2]. Diabetes melitus merupakan penyakit kronis berupa gangguan metabolik yang ditandai dengan kadar gula darah yang melebihi batas normal akibat adanya penurunan sekresi insulin, kerja insulin, ataupun keduanya [3]. Kondisi hiperglikemik pada pasien diabetes menyebabkan ketidakseimbangan dan penyembuhan luka yang lambat. Sebuah studi menyatakan bahwa lambatnya penyembuhan luka ini mempengaruhi 25% pasien diabetes dan 1 dari 3 hingga 1 dari 5 pasien diabetes berisiko luka kronis yang tak kunjung sembuh terutama pada kaki [4]. Apabila hal ini tidak ditangani dengan segera dapat menyebabkan kelompok bahkan kematian akibat infeksi [5]. Secara umum, penyembuhan luka melalui 4 tahap utama yaitu hemostasis, inflamasi, proliferasi, dan remodelling [6]. Pada luka diabetes, fase inflamasi dan proliferasi mengalami gangguan. Hal ini terjadi karena lingkungan kaya glukosa mengakibatkan adanya pembentukan produk akhir glikasi lanjutan dan peningkatan sitokin inflamasi seperti IL-1 β dan TNF α yang berkelanjutan [4]. Kadar TNF α yang tinggi selain menginduksi sekresi MMP secara langsung namun juga menekan pembentukan TIMP. Pada luka, TIMP berperan dalam meregulasi aktivitas MMP sedangkan MMP berperan dalam degradasi ECM untuk mendorong pengerahan sel-sel yang bertanggungjawab ke lokasi luka dan restrukturisasi jaringan. Berdasarkan studi *in vivo*, MMP yang aktif pada luka diabetes adalah MMP8 dan MMP-9. Aktivitas MMP9 yang berlebihan ini dapat menyebabkan ketidakseimbangan pada sintesis dan degradasi ECM yang kemudian menghambat produksi *growth factor* sehingga luka tak kunjung sembuh [7]. Hal inilah yang menjadikan TNF α dan MMP9 sebagai target obat dalam penanganan luka diabetes dengan harapan efektifitasnya dapat meningkat apabila aktivitas keduanya dapat dihambat. Penanganan standar dari luka diabetes adalah debriment luka, revaskularisasi peningkatan proses penyembuhan dan mengontrol infeksi bakteri.

Agen antimikroba seperti perak nitrat dan povidone-iodin atau antibiotik sistemik (perak sulfadiazin, mafenida, mupirocin, dll.) tidak selalu membantu mengurangi resiko infeksi progresif terutama apabila terdapat resistensi antibiotik sehingga peningkatan proses penyembuhan sangat penting terutama dalam menurunkan kemungkinan infeksi, komplikasi, dan biaya. Beberapa bahan alam memiliki aktivitas penyembuhan luka melalui aktivitas anti-inflamasi, antioksidan, proliferasi sel dan angiogenesis [8]. Sebagai salah satu dari 17 negara megadiversitas global, Indonesia memiliki jumlah tertinggi kedua tanaman obat asli. Hal ini membuat Indonesia memiliki potensi yang besar dalam penelitian farmasi dan bioteknologi. Selain itu, Indonesia juga kaya akan rempah-rempah yang merupakan sumber senyawa bioaktif yang minimal efek samping, availabilitas tinggi dan biaya yang terjangkau [9,10]. Dalam tanaman terdapat bioaktif fitokimia yang umumnya tergolong dalam senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid, saponin dan fenolik [11]. Beberapa senyawa bioaktif dalam tanaman rempah diketahui memiliki aktivitas dalam penyembuhan luka diantaranya adalah apigenin, asam klorogenat, luteolin, kaempferol, quercetin, kurkumin, 1,8-sineol, 6-gingerol, asam kafeat, dan asam sinamat [11-14]. Enade dkk (2023) telah melakukan penelitian mengenai asam kafeat secara *in silico* dan *in vitro* terhadap MMP9 sebagai upaya penanganan luka diabetes. Dari hasil penelitian dinyatakan bahwa asam kafeat memiliki aktivitas penghambatan dengan nilai IC₅₀ sebesar 88,99 $\pm$ 3,35 μ M sehingga berpotensi sebagai inhibitor MMP9 [14]. Hariono dkk (2020) dalam penelitiannya melakukan skrining 200 senyawa dari tanaman lokal terhadap MMP9 secara *in silico* dan didapatkan 20 senyawa hits dengan energi ikatan sebesar -11,2 hingga -8,1 kkal/mol diantaranya adalah *digitoxin*, *digoxin*, *gitoxin*, *thoninglanin A*, *amaranthin*, *ophiopogonin C*, *gypsogenin*, *pachyrrizin*, *sesquioiaflavone*, γ -*terpineol*, *2,3-dihydrowithaferin A*, *sesamin*, *thlrugosin*, *ixora peptide I*, *quercetin-3-O-(3'6''-O-di-p-coumaryl)-glucoside*, *cryptochrome*, *taraxerol*, *homoaromoline*, *(-)-glyceollin I*, *19- α -hydroxyasiatic acid* [15]. Arora dkk (2022) telah melakukan eksplorasi 200 fitokonstituen terpilih yang menargetkan TNF- α secara *in silico* dan didapatkan 9 senyawa dengan energi ikatan sebesar -11,2 hingga - 10,0 kkal/mol diantaranya adalah

emodin, aloe-emodin, pongamol, purpuritenin, semiglabin, asam ellagat, imperatorin, α -tocopherol dan octanorcucurbitacin [16]. Biradar dkk (2023) telah melakukan skrining secara *in silico* senyawa dari rempah-rempah utama yaitu kunyit, kayu manis, cabe rawit, jahe, dan bawang putih sebagai inhibitor TNF α dan didapatkan bahwa bisdemetoksikurkumin dan zerumbone memiliki aktivitas penghambatan yang signifikan dengan energi ikatan sebesar -7,22 dan -7,11 kkal/mol secara berturut-turut [17]. Berdasarkan studi pustaka yang telah dilakukan tersebut, skrining senyawa pada rempah-rempah khas Indonesia yang lebih lengkap sebagai inhibitor ganda terhadap MMP9 dan TNF α dalam penanganan luka diabetes belum dilakukan. Oleh karena itu, pada penelitian ini, akan dilakukan skrining senyawa yang terkandung dalam berbagai rempah-rempah khas Indonesia untuk mengeksplorasi lebih jauh lagi aktivitas penyembuhan lukanya melalui studi *in silico* molecular docking terutama terhadap MMP9 dan TNF α sebagai inhibitor yang berpotensi dalam peningkatan penyembuhan luka pada pasien diabetes melitus. Interaksi protein-ligan masing-masing protein pada pose ligan terbaik dengan energi ikatan terendah juga akan diamati yang dapat berguna untuk mendukung penemuan obat berbasis struktur.

METODE PENELITIAN

Bahan

File protein MMP9 (1gkc) dan TNF α (2az5) yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari <https://www.rcsb.org/>. Struktur 106 senyawa yang merupakan konstituen utama dari masing-masing rempah-rempah khas Indonesia diunduh dari <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> dalam format file pdb. Senyawa tersebut diantaranya adalah *nootkatone*; *caryophyllene oxide*; *curcumin*; *bisdemethoxycurcumin*; *demethoxycurcumin*; *aliin*; *allicin*; *ajoene*; *quersetin*; *fisetin*; *diallyl disulphide*; *diallyl trisulphide*; *gingerol*; *zingerone*; *gingerone-A*; *estragole*; *anisaldehyde*; *cis-anethole*; *geranyl acetate*; β -*myrcene*; *terpinen-4-ol*; *epicatechin*; *catechin*; *procyanidin*; *galangin*; *galic acid*; *piperin*; *piperidin*; β -*caryophyllene*; *trans-anethole*; *anisyl alkohol*; *anisyl acetone*; *myristicin*; *sabinene*; β -*pinene*; *capsaicin*; *dihydrocapsaicin*; *nordihydrocapsaicin*; *eugenol*; *eugenyl acetate*; α -*humulene*; *citronellal*; *d-limonene*; α -*citronellol*; *vitamin*

E; *pyrazine*, *tetrakis(1-methylethyl)*; *d-Nerolidol*; *methyl eugenol*; *squalene*; *1,4-di-tert-butylphenol*; *coumaran*; *apigenin*; *luteolin*; *caffeic acid*; *kaempferol*; *myrecetin*; *thymoquinone*; *carvacrol*; *9,12-octadecadienoic, ethyl ester*; *1,8-cineole*; α -*terpineol*; *cinnamaldehyde*; *cinnamyl acetate*; *cinnamyl alcohol*; *cinnamic acid*; *nonyl cyclopropane*; *1-tetradecane*; *cyclotetradecane*; *cyclododecane*; *trans ethyl p-methoxycinnamate*; *n-pentadecane*; *trans-ethyl cinnamate*; *linoleic acid*; *linolenic acid*; *oleic acid*; *3-acetyl aleuritolic acid*; *spruceanol*; *palmitic acid*, *linoleadid acid*, *stearic acid*, *(E)-2-Decenal*; *linalool*; γ -*terpinene*; *glycitin*; *pinostrobin*; *pinocembrin*; *cardamonin*; *alpinetin*; *xanthorrhizol*; α -*curcumene*; *cubebin*; *hinokinin*; *yatein*; *chlorogenic acid*; *lutein*; *methyl dihydroquercetin*; *cuminaldehyde*; *cymene*; *bis-(2-sulphydryl ethyl) disulfide*; *rosmarinic*; *p-coumaric acid*; *phytol*; *2-hexadecene*, *3,7,11,15-tetramethyl*; *neophytadiene*; *germacene D*; *vanillin*. Senyawa-senyawa tersebut dipilih karena merupakan 1-3 senyawa dengan presentase kadar terbesar dari ekstrak masing-masing tanaman rempah khas Indonesia berdasarkan penelusuran beberapa penelitian terdahulu.

Alat

Aplikasi yang digunakan dalam preparasi input file adalah YASARA-Structure, penambatan molekul dilakukan menggunakan PyRx version 0.9.9, dan analisis interaksi protein-ligan dilakukan menggunakan Discovery Studio 2024.

Penelitian ini dilakukan dalam *personal computer* Windows 11 Pro, processor Intel(R) Core(TM) i5-14400 2,50 GHz, 32 GB RAM, 64-bit operating system.

Metode

Preparasi Input File

File input dimuat dengan SeqRes “Yes” pada opsi pemuatan. Molekul yang tidak diperlukan pada penambatan molekul dihapus. Modul SeqRes akan menampilkan residu asam-asam amino yang hilang sehingga selanjutnya perlu ditambahkan asam-asam amino yang hilang tersebut sebelum kemudian ditambahkan terminal caps pada kedua ujung masing-masing protein. Perintah pH value=7,4, update=Yes, dan CleanAll dilakukan untuk menambah hidrogen dengan benar pada pH fisiologis.

Force Field AMBER14 ditetapkan dan minimisasi energi dilakukan dalam simulasi sel berbentuk kubus dengan jarak 5 Å disekitar atom-atom. Kompleks protein-ligan natif dipisahkan dan dibuat ke dalam file yang berbeda. Masing-masing file protein dipreparasi secara terpisah dan kemudian disimpan sebagai 1gkc-corr protein.pdb, 1gkc-corr ligand.pdb, 2az5-corr protein.pdb dan 2az5-corr ligand.pdb.

Validasi Docking

Penambatan molekul ligan natif (Redocking) dilakukan untuk memvalidasi parameter yang digunakan pada saat penambatan molekul. Parameter docking dikatakan valid apabila nilai RMSD kompleks reseptor-ligan natif < 2 Å. Koordinat gridbox yang digunakan pada saat redocking ligan natif kemudian digunakan untuk penambatan molekul 106 senyawa dari rempah-rempah terhadap masing-masing protein.

Running Docking

Penambatan molekul ligan natif dan 106 senyawa dari rempah-rempah terhadap masing-masing protein dilakukan menggunakan AutoDock Vina yang terintegrasi pada PyRx 0.9.9.

Analisis Data

Seluruh hasil docking disimpan dalam format csv dan sdf. Seluruh hasil nilai energi ikatan dari 106 senyawa terhadap masing-masing protein diurutkan dari yang paling rendah. Interaksi kompleks protein-ligan diamati pada 5 senyawa hits dengan energi ikatan terendah. Energi ikatan yang diperoleh digunakan untuk menentukan konstanta inhibisi dari ligan terhadap reseptor melalui persamaan:

$$K_i = e^{\frac{\Delta G}{R \times T}} \dots \dots \dots (1)$$

K_i : Konstanta Inhibisi (M)
 ΔG : Energi Ikatan/Afinitas (^{kkal}/_{mol})
 R : Konstanta Gas (0,001987 ^{kkal}/_{mol.K})
 T : Suhu Ruang (298,15 K)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil redocking ligan natif terhadap masing-masing protein (0.3020 Å pada MMP9 dan 0.6858 Å pada TNFα) maka dapat disimpulkan bahwa metode *docking* yang dilakukan valid karena nilai RMSD < 2 Å. Ligan natif *N~2~-[(2R)-2-{[formyl(hydroxy)amino]methyl}-4-methylpentanoyl]-N,3-dimethyl-L-valinamide* (NFH) berinteraksi dengan 11 residu asam amino MMP9 yaitu Gly186, Leu187; Leu188; Ala189; Tyr393; His401; Glu402; Pro421; Met422; Tyr423; dan Zn1450 dengan nilai energi ikatan sebesar -6,6 kkal/mol dan K_i sebesar 14,510 μM. Disisi lain, ligan natif *6,7-Dimethyl-3-[(methyl{2-[methyl{(1-[3-(trifluoromethyl)phenyl]-1H-indol-3-yl)methyl}amino]ethyl}amino)methyl]-4H-chromen-4-one* (307) berinteraksi dengan 8 residu asam amino TNFα yaitu Leu57A; Gly121A; Gly122A; Tyr59B; Gly121B; Tyr119A; Tyr119B; Tyr151B dengan nilai energi ikatan sebesar -8,9 kkal/mol dan K_i sebesar 0,299 μM.

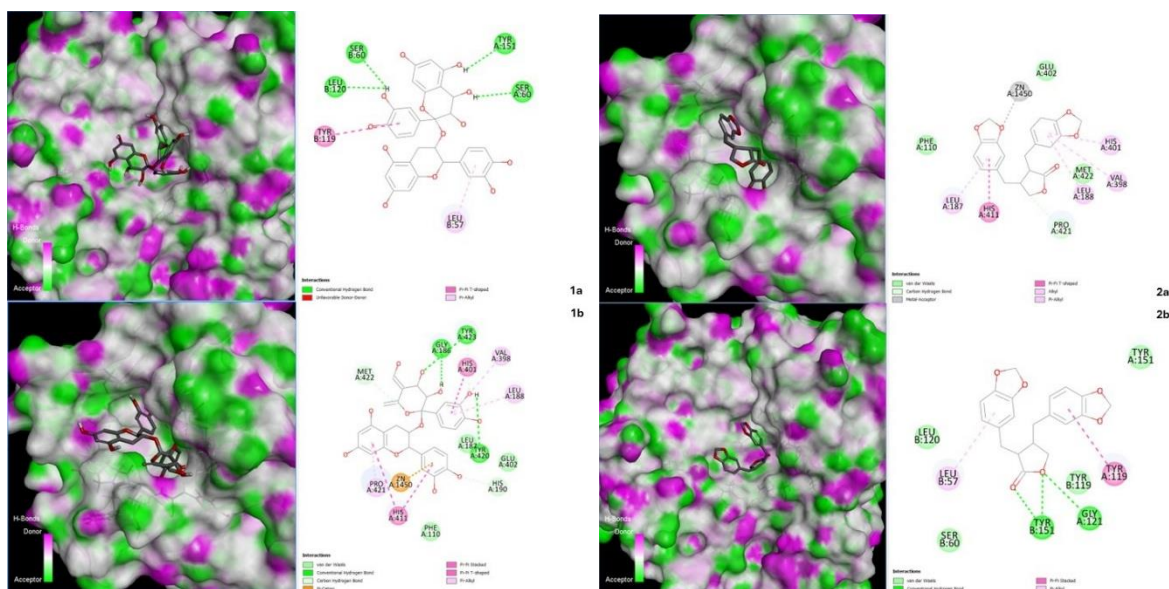
Pada penambatan molekul perlu dilakukan penentuan parameter *grid box* yang meliputi koordinat dan volume. Pada penambatan molekul terhadap 1GKC didapatkan koordinat pusat x; y; dan z adalah 65,6995024228; 30,5310837216; dan 117,528937828 secara berturut-turut dengan volume 15×15×15. Pada penambatan molekul terhadap 2AZ5 didapatkan koordinat pusat x; y; dan z adalah -18,8778116287; 74,8033523709; dan 33,7520826904 secara berturut-turut dengan volume 15×15×15. Penambatan molekul dilakukan sebanyak 25 *run*. Analisis hasil penambatan molekul 106 senyawa dari rempah-rempah khas Indonesia meliputi energi ikatan dan interaksi ligan dengan residu protein. Konformasi masing-masing ligan hasil docking diperlihatkan berdasarkan nilai energi ikatan dari yang terkecil hingga yang terbesar. Dari 106 senyawa dari rempah-rempah khas Indonesia kemudia diidentifikasi 5 senyawa yang memiliki energi ikatan terendah.

Tabel 1. Hasil docking terhadap MMP9

Nama senyawa	Energi ikatan (^{kkal}/_{mol})	Konstanta Inhibisi (μM)	Asam amino yang berinteraksi
<i>Hinokinin</i>	-9,3	0,152	Leu187; Leu188; His411; Val398; His401; Pro421; Zn1450
<i>Procyanidin</i>	-9,2	0,180	Gly186; Leu187; Leu188; His190; Val398; His401; His411; Tyr420; Pro421; Met422; Tyr423 Zn1450
<i>Xanthorrhizol</i>	-8,9	0,299	Phe110; Leu187; Leu188; Val398; His401; Glu402; Met422; Tyr423
<i>Cubebin</i>	-8,7	0,419	Phe110; Gly186; Leu187; Leu188; Val398; His401; Glu402; His411; Met422; Tyr423
<i>Rosmarinic acid</i>	-8,5	0,587	Phe110; Leu187; Leu188; Val398; His401; Glu402; His411; Met422; Zn1450

Tabel 2. Hasil docking terhadap TNFα

Nama senyawa	Energi ikatan (^{kkal}/_{mol})	Konstanta Inhibisi (μM)	Asam amino yang berinteraksi
<i>Procyanidin</i>	-9,1	0,213	Ser60A; Tyr151A; Leu57B; Ser60B; Tyr119B; Leu120B
<i>Hinokinin</i>	-8,9	0,299	Tyr119A; Gly121A; Tyr151A; Leu57B; Ser60B; Tyr119B; Leu120B; Tyr151B
<i>Cubebin</i>	-8,9	0,299	Tyr119A; Gly121A; Leu57B; Tyr59B; Tyr151B
<i>Lutein</i>	-8,9	0,299	Tyr119A; Gly121A; Leu57B; Tyr59B; Tyr151B
<i>Rosmarinic acid</i>	-8,7	0,419	Ser60A; Gln61A; Tyr119A; Gly121A; Gly122A; Tyr59B; Leu57B; Ser60B; Gln61B; Tyr119B; Tyr151B



Gambar 1. Visualisasi 3D interaksi Procyanidin (1) dan Hinokinin (2) terhadap MMP9 (a) dan TNF α (b) dengan menampilkan interaksi protein-ligan secara 2D (hijau: ikatan hidrogen; merah muda: ikatan hidrofobik)

Tabel 1 menunjukkan 5 senyawa yang memiliki nilai energi ikatan terendah dan residu asam amino yang terlibat dalam interaksi dengan MMP9. Senyawa-senyawa tersebut adalah *hinokinin*, *procyanidin*, *xanthorrhizol*, *cubebin*, dan *rosmarinic acid* secara berturut-turut dengan rentang dari -9,3 hingga -8,5 kkal/mol. Tabel 2 menunjukkan 5 senyawa yang memiliki nilai energi ikatan terendah dan residu asam amino yang terlibat dalam interaksi dengan TNF α . Senyawa-senyawa tersebut adalah *procyanidin*, *hinokinin*, *cubebin*, *lutein*, dan *rosmarinic acid* secara berturut-turut dengan rentang dari -9,1 hingga -9,7 kkal/mol. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa *hinokinin*, *procyanidin*, *cubebin*, dan *rosmarinic acid* menunjukkan energi ikatan yang rendah terhadap MMP9 maupun TNF α sehingga berpotensi dalam menghambat kedua protein sekaligus.

Energi ikatan berkorelasi positif dengan nilai konstanta inhibisi. Semakin rendah nilai energi ikatan maka nilai konstanta inhibisi juga akan semakin rendah [18]. Nilai konstanta inhibisi yang lebih rendah menunjukkan semakin besarnya kemampuan suatu ligan dalam menghambat protein target karena lebih mudah berinteraksi dengan protein target [19]. *Procyanidin* dan *hinokinin* menempati peringkat pertama pada penghambatan terhadap kedua protein yang menunjukkan bahwa senyawa ini memiliki potensi paling tinggi dalam menghambat kedua protein sekaligus. Gambar 1 menunjukkan visualisasi senyawa

tersebut beserta jenis interaksinya terhadap MMP9 dan TNF α . Terlebih lagi, *procyanidin* memiliki energi ikatan yang lebih rendah yaitu -9,2 kkal/mol ($K_i = 0,180 \mu\text{M}$) terhadap MMP9 dan -9,1 kkal/mol ($K_i = 0,213 \mu\text{M}$) terhadap TNF α dibandingkan ligan natif terhadap masing-masing protein. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Pan et al (2018) yang menyatakan bahwa *procyanidin* secara signifikan menghambat aktivitas MMP2 dan MMP9 [20]. Selain itu, *procyanidin* juga mampu menurunkan ekspresi TNF α dan meningkatkan ekspresi SOD, CAT, dan GSH [21]. Chen et al (2023) menyimpulkan bahwa menargetkan pada jalur pensinyalan yang relevan dengan respon inflamasi yang melibatkan TNF α memberikan efek terapeutik yang menjanjikan dalam memodulasi ekspresi MMP9 pada ulserasi luka diabetes [22].

Adalimumab dan infliximab yang merupakan inhibitor TNF α diketahui dapat meningkatkan penyembuhan luka pada kulit secara signifikan [23]. Disisi lain, Feng et al (2014) melaporkan bahwa penghambatan MMP secara lokal bermanfaat dalam regenerasi pembuluh darah yang rusak yang menunjukkan potensi penggunaan inhibitor MMP lokal untuk meningkatkan *outcome* terapi dalam penanganan luka diabetes [24]. Oleh karena itu, *procyanidin* memiliki potensi yang besar sebagai kandidat bahan alam dalam penanganan luka diabetes yang efektif karena dapat menghambat aktivitas kedua protein tersebut sekaligus.

Ketersediaan tanaman rempah-rempah khas Indonesia melimpah, hal ini membuat senyawa *hinokinin*, *procyanidin*, *cubebin*, dan *rosmarinic acid* sebagai konstituen utama dari tanaman rempah menjadi lebih mudah didapatkan. Profil polifenol kulit buah asam jawa (*Tamarindus indica* L.) didominasi dengan *procyanidin* sebanyak 73,4% dan bijinya hanya mengandung *procyanidin* saja [25]. *Rosmarinic acid* adalah senyawa fenolik yang menjadi konstituen utama dari ekstrak metanol bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) sebanyak 0,234 mg/g [26]. *Hinokinin* merupakan lignan yang paling banyak pada bagian akar dan batang Kemukus (*Piper cubeba* L.f.) sedangkan *cubebin* merupakan salah satu lignan yang paling banyak pada bagian buahnya [27].

Masih diperlukan penelitian lebih lanjut terkait aktivitas penghambatan kedua protein tersebut oleh *hinokinin*, *procyanidin*, *cubebin*, dan *rosmarinic acid* seperti simulasi dinamika molekul secara *in silico* untuk melihat stabilitas kompleks protein-ligan maupun uji *in vitro* terhadap protein target.

SIMPULAN

Skrining 106 senyawa dari rempah-rempah khas Indonesia telah dilakukan dan didapatkan 4 senyawa yang memiliki afinitasnya yang paling baik terhadap MMP9 dan TNF α sekaligus yaitu *hinokinin*, *procyanidin*, *cubebin*, dan *rosmarinic acid* dengan nilai energi ikatan sebesar -9,3; -9,2; -8,7; -8,5 kkal/mol terhadap MMP9 dan sebesar -8,9; -9,1; -8,9; -8,7 kkal/mol terhadap TNF α secara berturut-turut. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa tersebut merupakan kandidat yang berpotensi sebagai agen terapeutik dalam penyembuhan luka diabetes.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih atas pendanaan Ma Chung Research Grant 2024 berdasarkan berita acara no 002/BAPULP/LPPMI-MRG/IV/2024.

DAFTAR PUSTAKA

[1] Williams R, et al. IDF Diabetes Atlas 9th. IDF Diabetes Atlas, 9th edition. 2019. 1–764.

[2] Kemenkes RI. Infodatin: Tetap Produktif, Cegah, dan Atasi Diabetes Melitus. 2018

[3] Kharroubi AT. Diabetes mellitus: The epidemic of the century. *World J Diabetes*. 2015;6(6):850.

[4] Chakraborty R, Borah P, Dutta PP, Sen S. Evolving Spectrum of Diabetic Wound: Mechanistic Insights and Therapeutic Targets. *World Journal of Diabetes*. 2022;13(9) 696-716.

[5] Suparwati S & Fradianto I. Identifikasi Bakteri Pada Luka Kaki Diabetes Yang Mengalami Infeksi. *BIMIKI*. 2022, 10: 35-43.

[6] Fauziah M & Soniya F. Potensi Tanaman Zigzag sebagai Peyembuh Luka. *Jurnal Penelitian Perawat Profesional*. 2020, 2: 39-44.

[7] Fu K, Zheng X, Chen Y, Wu L, Yang Z, Chen X, Song W. Role of Matrix Metalloproteinases in Diabetic Foot Ulcers: Potential Therapeutic Targets. *Front Pharmacol*. 2022, Vol 13.

[8] Herman A & Herman AP. Herbal Products and Their Active Constituents for Diabetic Wound Healing-Preclinical and Clinical Studies: A Systematic Review. *Pharmaceutics*. 2023, 15(1): 281.

[9] Slowianek M & Leszczynska J. Antioxidant Properties of Selected Culinary Spices. *De Gruyter*. 2016, Vol 62.

[10] Rintelen KV, Arida E, Hauser C. A Review of Biodiversity-Related Issues and Challenges in Megadiverse Indonesia and Other Southeast Asian Countries. *Research Ideas and Outcomes*. 2017.

[11] Vitale S, Colanero S, Placidi M, Emidio GD, Tatone C, Amicarelli F, D'Alessandro AM. Phytochemistry and Biological Activity of Medicinal Plants in Wound Healing: An Overview of Current Research. *Molecules*. 2022, 27(11): 3566.

[12] Al-Rawaf HA, Gabr SA, Alghadir AH. Molecular Changes in Diabetic Wound Healing Following Administration of Vitamin D and Ginger Supplements: Biochemical and Molecular Experimental Study. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2019, 2019: 4352470.

- [13] Malekipour MH, Shirani F, Moradi S, Taherkhani A. Cinnamic Acid Derivatives as Potential Matrix Metalloproteinase-9 Inhibitors: Molecular Docking and Dynamics Simulations. *Genomics & Informatics*. 2023, 21.\
- [14] Istyastono EP, Yuniarti N, Prasasty VD, Mungkasi S, Waskitha SSW, Yanuar MRS, Riswanto FDO. Caffeic Acid in Spent Coffee Grounds as a Dual Inhibitor for MMP-9 and DPP-4 Enzyme. *Molecules*. 2023, 28(20): 7182.
- [15] Hariono M, Rollando R, Karamoy J, Hariyono P, Atmono M, Djohan M, Wiwy W, Nuwarda R, Kurniawan C, Salin N, Wahab H. Bioguided Fractionation of Local Plants against Matrix Metalloproteinase9 and Its Cytotoxicity against Breast Cancer Cell Models: *In silico* and In Vitro Study. *Molecules*. 2020.
- [16] Arata S, Rushiya P, Tirpude K, Sapkal N, Yende S, Itadwar A, Shah S. Exploring the phytoconstituents targeting TNF- α ad potential lead compounds to treat inflammatory diseases: an in-silico approach. *Digital Chinese Medicine*. 2022, 5(3): 264-275.
- [17] Biradar S, Srushti SC, Shreedevi SJ, Tejaswini RH, Raja NH, Babu RL. Virtual Screening and Molecular Dynamic Simulation Studies of Anti-TNF- α Phytochemical from Major Spices. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. 2023, 13(6):538.
- [18] Aziz A, Andrianto D, Safithri M. Molecular Docking of Biactive Compounds from Wungu Leaves (*Graptophyllum pictum* (L) griff) as Tyrosinase Inhibitors. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. 2022, 9(2): 96-107.
- [19] Fiona, Bebralia J, Restianingsih T, Sirait FY, Regina I. Analisis Molekular Docking *in silico* Terhadap Bakteri *Mycobacterium tuberculosis* pada Daun Tanaman Herbal Eukaliptus Lemon (*Corymbia citriodora*). *Newton-Maxwell Journal of Physics*. 2024.
- [20] Pan C, Wang C, Zhang L, Song L, Chen Y, Liu B, Liu W-T, Hu L, Pan Y. Procyanidins Attenuate Neuropathic Pain by Suppressing Matrix Metalloproteinase-9/2. *Journal of Neuroinflammation*. 2018, 15: 187.
- [21] Liu L, Wang M, Guo M, Xian L, Xu J, Xian D, Zhong J. Protection of Proanthocyanidins Against HSP Serum-Induced Inflammation and Oxidative Stress on Human Umbilical Vein Endothelial Cells. *Clinical, Cosmetics and Investigational Dermatology*. 2024, 17: 731-743.
- [22] Chen J, Qin S, Liu S, Zhong K, Jing Y, Wu X, Peng F, Li D, Peng C. Targeting Matrix Metalloproteases in Diabetic Wound Healing. 2023, 14.
- [23] Cao Y, Harvey BP, Jin L, Westmoreland S, Wang J, Puri M, Yang Y, Robb HM, Tanriverdi S, Hu C, Wang X, Xin X, Liu Y, Macoritto MP, Smith KM, Tian Y, White K, Radstake TRDJ, Kaymakcalan. Therapeutic TNF Inhibitors Exhibit Differential Levels of Efficacy in Accelerating Cutaneous Wound Healing. 2024, 4(1): 100250.
- [24] Feng G, Hao D, Chai J. Processing of CXCL12 Impedes the Recruitment of Endothelial Progenitor Cells in Diabetic Wound Healing. 2014, 281(22): 5054-5062.
- [25] Sudjaroen Y, Haubner R, Wurtele G, Hull WE, Erben G, Spiegelhalder B, Changbumrug S, Bartsch H, Owen RW. Isolation and Structure Elucidation of Phenolic Antioxidants from Tamarind (*Tamarindus indica* L.) Seeds and Pericarp. *Food and Chemical Toxicology*. 2005, 43(11):1673-82.
- [26] Ruksiriwanich W, Khantam C, Muangsanguan A, Chittasupho C, Rachtanapun P, Jantanasakulwong K, Phimolsiripol Y, Sommano S, Sringarm K, Ferrer E, Barba FJ. Phytochemical Constitution, Anti-Inflamtion, Anti-Androgen, and Hair Growth-Promoting Potential of Shallot (*Allium ascalonicum* L.) Extract. *PLANTS*. 2022, 11(11):1499.
- [27] Drissi B, Mahdi I, Yassir M, Bakrim WB, Bouissane L, Sobeh M. Cubeb (*Piper cubeba* L.f.): A Comprehensive Review of Its Botany, Phytochemistry, Traditional Uses, and Pharmacological Properties. *Frontiers in Nutrition*. 2022, 9:1048520.