

MOLEKULAR DOCKING KON드로ITIN SULFAT DAN ASAM HIALURONAT YANG TERKADUNG DALAM *EGGSHELL MEMBRANE* BERPOTENSI MENGHAMBAT MMP13 SECARA *INSILICO*

Noviar Antoni¹, Deni Rahmat², Pamian Siregar³, Sri Widyastuti⁴

¹ Program Studi Doktor Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Jl. Srengseng Sawah, Jagakarsa Jakarta 12640, Indonesia

² Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Jl. Srengseng Sawah, Jagakarsa Jakarta 12640, Indonesia

³ Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Jl. Srengseng Sawah, Jagakarsa Jakarta 12640, Indonesia

⁴ Fakultas Ekonomi Bisnis Universitas Pancasila, Jl. Srengseng Sawah, Jagakarsa Jakarta 12640, Indonesia

Korespondensi : Noviarantoni88@gmail.com

ABSTRAK

Matriks metalloproteinase-13 (MMP-13) adalah MMP utama yang terlibat dalam degradasi tulang rawan melalui kemampuan khususnya membelah kolagen tipe II. MMP13 sebagai target yang menarik dalam *remodeling* Jaringan ikat dan menghambat enzim MMP13 untuk pengobatan *Osteoarthritis (OA)*. Namun, detailnya Mekanisme molekuler dalam inisiasi dan progresi OA masih sulit dipahami. Data RISKESDAS 2019 menunjukkan penderita osteoarthritis prevalensinya terus meningkat sebesar 55 juta jiwa (24,7%) Oleh karena itu diperlukan strategi untuk menghambat MMP-13. Tujuan tinjauan *Insilico* ini adalah untuk mengidentifikasi MMP-13 sebagai target untuk pengembangan *inhibitor* di dunia pengobatan OA. Limbah *Eggshell Membrane (ESM)* mengandung protein berserat dalam *Multicomponent system* (seperti kolagen tipe 1) dan glikosaminoglikan alami (misalnya dermatan sulfat, Kondroitin Sulfat dan Asam Hialuronat). ESM Berpotensi sebagai *inhibitor* aktivitas MMP13. Hasil penambatan molekuler terhadap protein MMP13 menunjukkan terdapat dua senyawa dalam ESM yaitu Kondroitin Sulfat dan Asam Hialuronat, memiliki *Rerank Score* (skor *Docking*) lebih negatif dari ligan *native* 1UA_309, 2-[(4-methylbenzyl) sulfanyl]-3,5,6,7-tetrahydro-4H-cyclopenta[d]pyrimidin-4-one (MBSTCP) merupakan *inhibitor* MMP13. Berdasarkan temuan ini kedua senyawa tersebut berpotensi dapat berperan sebagai *inhibitor* MMP13 yang lebih baik dibandingkan dengan ligan *native* 1UA_309(MBSTCP). Hasil prediksi toksisitas menggunakan pkCSM menunjukkan Kondroitin Sulfat dan Asam Hialuronat tidak berpotensi bersifat toksik. Diperlukan penelitian lebih lanjut secara *In vitro* dan *In vivo* terkait mekanisme kerja ESM sebagai *multicomponent system* dan parameter ADMET senyawa dalam ESM.

Kata kunci: MMP13, *Osteoarthritis*, Kondroitin Sulfat dan Asam Hialuronat, *Molecular Docking*

ABSTRACT

Matrix metalloproteinase-13 (MMP-13) is the main MMP involved in cartilage degradation through its special ability to cleave type II collagen. MMP13 is an attractive target in connective tissue remodeling, and inhibiting the MMP13 enzyme for the treatment of Osteoarthritis (OA). However, the details of the molecular mechanisms in the initiation and progression of OA are still elusive. RISKESDAS 2019 data show that the prevalence of osteoarthritis sufferers continues to increase by 55 million people (24.7%). Therefore, a strategy to inhibit MMP-13 is needed. The purpose of this *Insilico* review is to identify MMP-13 as a target for inhibitor development in the world of OA treatment. The waste of Eggshell Membrane (ESM) contains fibrous proteins in a Multicomponent system (such as type 1 collagen) and natural glycosaminoglycans (eg, dermatan sulfate, Chondroitin Sulfate, and Hyaluronic Acid). ESM has the potential to be an inhibitor of MMP13 activity. The results of molecular docking of the MMP13 protein show that there are two compounds in ESM, namely Chondroitin Sulfate and Hyaluronic Acid, which have a *Rerank Score* (*Docking score*) that is more negative than the *native* ligand 1UA_309, 2-[(4-methylbenzyl) sulfanyl]-3,5,6,7-tetrahydro-4H-cyclopenta[d]pyrimidin-4-one (MBSTCP), which is an MMP13 inhibitor. Based on these findings, these two compounds have the potential to act as better MMP13 inhibitors compared to the *native* ligand 1UA_309(MBSTCP). Toxicity prediction results using pkCSM indicate that chondroitin sulfate and hyaluronic acid are not potentially toxic. Further *in vitro* and *in vivo* research is needed to investigate the

mechanism of action of ESM as a multicomponent system and the ADMET parameters of the compounds in ESM.

Keywords: MMP13, Osteoarthritis, Chondroitin Sulfate and Hyaluronic Acid, Molecular Docking

PENDAHULUAN

Osteoarthritis (OA) merupakan penyakit degeneratif yang prevalensinya tinggi melibatkan perubahan anatomi dan fisiologis pada sendi, mengakibatkan nyeri, kaku, disfungsi sendi, dan penurunan kualitas hidup [3]. OA Lutut (OAL), salah satu jenis yang paling umum, menyerang 22,9% populasi berusia di atas 40 tahun di seluruh dunia [4]. Selain itu, OAL menyumbang 83% dari total beban penyakit global di kalangan OA, yang diukur berdasarkan prevalensi dan tahun hidup dengan disabilitas [5]. Karena itu, OAL masih menjadi masalah kesehatan yang serius, terutama kualitas hidup [6][7].

Menurut Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, penduduk lansia pada tahun 2019 terdapat sekitar 25,9 juta jiwa dan akan terus meningkat setiap tahunnya [8]. Prevalensi Osteoarthritis di Indonesia adalah sebanyak 55 juta jiwa (24,7%). Menurut Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) prevalensi osteoarthritis berdasarkan usia sebanyak 5% pada usia <40 tahun, 30% pada usia 40-60 tahun, dan 65% pada usia >61 tahun [9].

Matriks metalloproteinase-13 atau MMP13 merupakan enzim yang berperan dalam degradasi matriks ekstraseluler, terlibat dalam pemecahan protein matriks ekstraseluler selama remodeling jaringan dalam proses fisiologis normal, seperti dalam proses penyakit Arthritis. Kebanyakan MMP disekresi sebagai pra-protein tidak aktif yang diaktifkan ketika dibelah oleh proteinase ekstraseluler. MMP13 adalah *proteinase* yang disintesis dan disekresikan oleh fibroblas sinovial dan kondrosit pada sendi. MMP13 secara aktif terlibat dalam penghancuran sendi pada pasien. Enzim MMP13 mendegradasi kolagen tipe II, proteoglikan, fibronektin, laminin, elastin. MMP13 penting dalam *remodeling* jaringan ikat dan menghambat enzim MMP13 adalah Kunci strategi dalam pengobatan OA. ESM merupakan bahan biomaterial yang menempel pada bagian Membran cangkang telur mengandung protein berserat (misalnya kolagen tipe I) dan glikosaminoglikan alami (misalnya Dermatan sulfat, Kondroitin Sulfat dan Asam Hialuronat (10). Pada penelitian ini peneliti mencari *inhibitor* aktivitas MMP13 dari senyawa yang terkandung dalam ESM yaitu Kondroitin Sulfat dan Asam Hialuronat.

METODE PENELITIAN

Preparasi Protein dan Ligan, Struktur kristal kompleks MMP13 *binding* protein MBSTCP (PDB ID: 4L19) dengan ligan *native*1UA_309 [D]

(MBSTCP) diunduh dari basis data RSCB PDB (www.pdb.org) dan disimpan sebagai file protein data bank (PDB). Uji *Insilico* dilakukan menggunakan *Molegro Virtual Docker*, MVD (free trial). Pemilihan *software* MVD karena *MolDock Score* dan *Rerank Score* dapat memperkirakan kekuatan ikatan antara reseptor dan ligan, mudah diakses karena berbasis *windows*, MVD dapat memvalidasi metode *docking* dengan menggunakan nilai *Root Mean Square Deviation*. Semua molekul air dikeluarkan dan dilakukan koreksi pada residu asam amino yang tidak sesuai. Persiapan ligan (Kondroitin Sulfat dan Asam Hialuronat) dilakukan pada MVD untuk menemukan konformasi yang paling stabil atau memiliki energi (nilai *Merck Molecular Force Field*, MMFF94) yang paling rendah

Analisis Interaksi Ligan-Protein dengan Penambatan Molekuler (*molecular docking*), Analisis interaksi Protein dan ligan dengan pengikatan molekuler dilakukan dengan menggunakan MVD pada semua struktur 3D dari ligan *native* atau senyawa metabolit ESM (Kondroitin Sulfat dan Asam Hialuronat). Selanjutnya dilakukan suatu proses *re-docking* dilakukan terhadap molekul 1UA_309 [D] (MBSTCP) pada 4L19 di wilayah binding site protein untuk memvalidasi metode *docking* yang digunakan. Persyaratan validitas metode ini ditetapkan dengan nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) < 2 Å. Setelahnya, penambatan molekuler diterapkan pada struktur 3D ligan terhadap struktur kristal protein. Penambatan molekuler juga dilakukan pada senyawa Kondroitin Sulfat dan Asam Hialuronat yang diketahui dapat berinteraksi secara langsung dengan MMP13 [11]. Dalam proses *docking* ini, parameter yang diukur meliputi nilai energi yang terlibat, seperti *MolDock Score*, *Rerank Score*, dan *Hbond*. Untuk mengevaluasi kekuatan ikatan antara ligan dan protein reseptor, *Rerank Score* menjadi parameter yang digunakan secara umum [12].

Analisis data ADMET secara *Insilico* menggunakan pkCSM, Analisis ADMET dilakukan pada senyawa Kondroitin Sulfate dan Asam Hialuronat yang diprediksi sebagai kandidat inhibitor MMP13. Kandidat inhibitor MMP13 adalah senyawa metabolit ESM dengan nilai *Rerank Score* lebih negatif dari nilai *Rerank Score* 1UA_309(MBSTCP).

Alat : Komputer yang digunakan memiliki spesifikasi *Windows 11 Pro, processor Intel(R) Core (TM) i7-8665U CPU @ 1,90 GHz -2,11 GHz*, dan RAM 16,0 GB. Basis data RSCB PDB

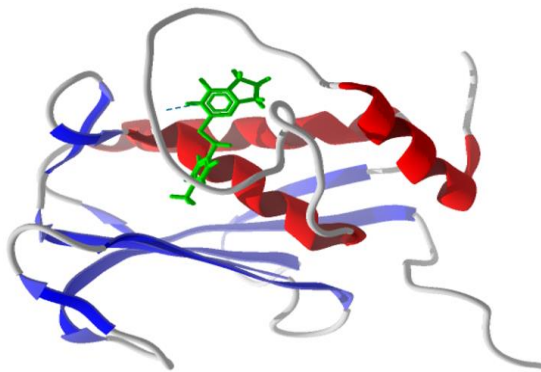
Struktur 3D 4L19 [D] dan ligan 1UA_309(MBSTCP). Yang terdapat pada struktur kristal 4L19 [D] dapat dilihat pada Gambar 1. Validasi interaksi 4L19 [D] dengan ligan pada struktur kristalnya 1UA_309(MBSTCP) melalui proses *redocking* dapat dilihat pada Gambar Tabel 1 dan Gambar 2. Pada Tabel 1, nilai RMSD hasil proses *redocking* menunjukkan nilai di bawah 2 Å. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa metode

(www.pdb.org). *Software Molegro Virtual Docker, MVD (free trial)*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

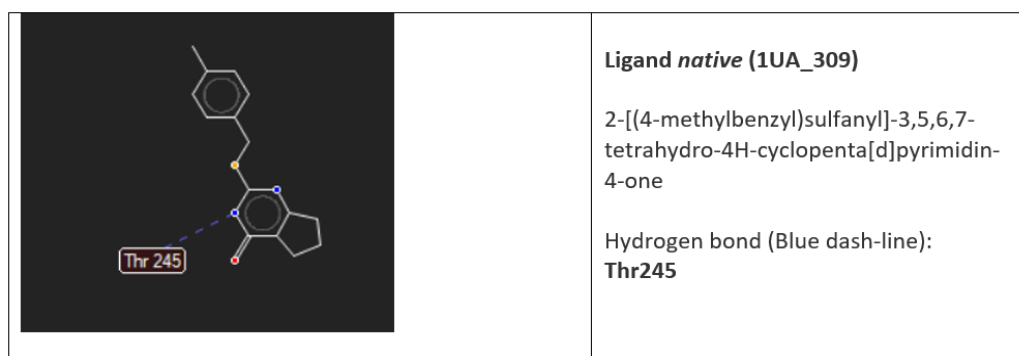
penambatan molekuler yang dilakukan cukup valid. Setelah metode penambatan molekuler dinilai *valid*, proses selanjutnya dilakukan penambatan molekuler antara senyawa Kondroitin Sulfat dan Asam Hialuronat dengan 4L19 [D]. Hasil penambatan molekuler tersebut dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 3. Pada penelitian ini, efek penghambatan OAL ESM melalui penghambatan jalur persinyalan MMP13 secara *Insilico* dapat dibuktikan.

Gambar 1. Struktur Kristal Protein MMP-13 (4L19 [D]) dan ligand native nya (1UA_309)



Tabel 1. Nilai Energi yang dilepaskan (dalam skor docking) akibat interaksi MMP-13 (4L19 [D]) dengan ligan native 1UA_309(MBSTCP) dan nilai RMSD hasil redocking

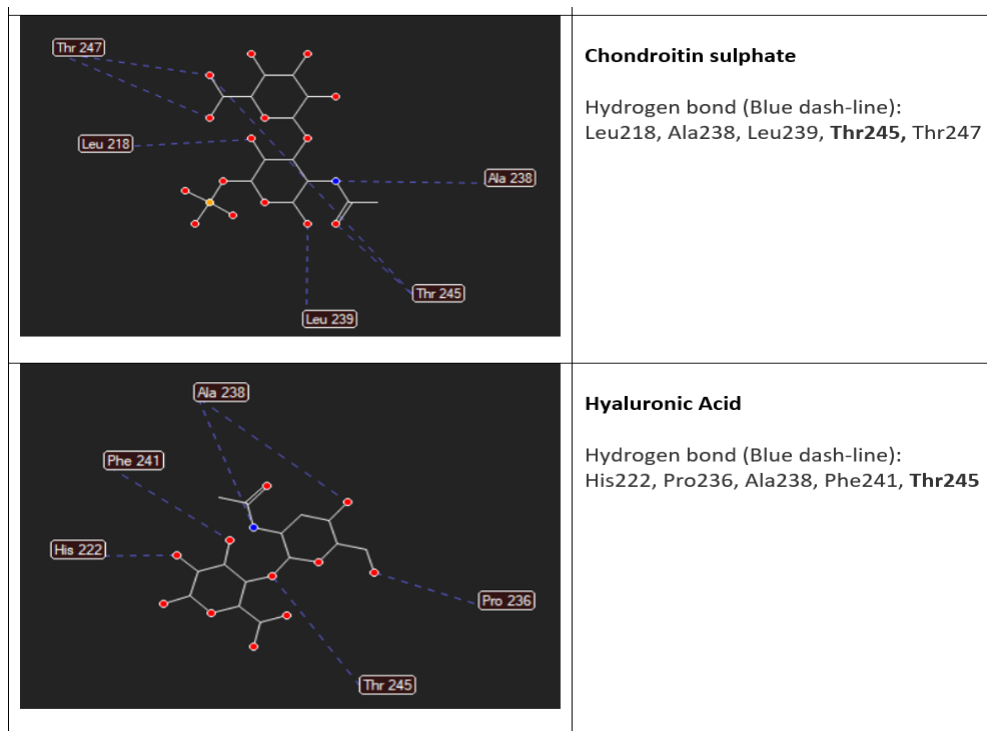
Name	MolDock Score (kJ/mol)	Rerank Score (kJ/mol)	RMSD (Å)	Hbond (kJ/mol)
[00]1UA_309 [B]	-120.262	-103.525	1.52037	-2.57245
[05]1UA_309 [B]	-118.901	-100.628	1.92188	-0.33685
[07]1UA_309 [B]	-114.681	-101.123	2.57940	0



Gambar 2. Interaksi Senyawa uji dengan residu Asam Amino MMP-13

Tabel 2. Hasil *Docking* senyawa uji dengan MMP-13

Name	MolDock Score (kJ/mol)	Rerank Score (kJ/mol)	Hbond (kJ/mol)
[00] Chondroitin sulphate	-149.982	-141.957	-13.4673
[00] hyaluronic acid	-129.261	-112.212	-5.21134
[05]1UA_309 [B]	-122.259	-107.518	-2.49849



Gambar 3. Interaksi antara residu asam amino MMP 13 (dengan 4L19 [D]) dengan Kondroitin Sulfat dan Asam Hialuronat.

Berdasarkan hasil *Rerank score* senyawa dalam ESM yaitu Kondroitin Sulfat dan Asam Hialuronat berpotensi dapat berperan sebagai *inhibitor* MMP13. MVD merekomendasikan penggunaan *Rerank Score* untuk mengevaluasi hasil dari penambatan molekuler. *Rerank Score* merupakan ukuran dari afinitas ikatan yang menyatukan energi yang dilepaskan dari interaksi antara ligan dan protein (*Einter*), serta energi internal ligan (*Eintra*) [12]. Dengan memperhitungkan energi internal ligan, seperti, ikatan sp²-sp², ikatan hidrogen, torsi ikatan, interaksi elektrostatis dan interaksi *Van der Waals*, *Rerank Score* bertujuan untuk meningkatkan ketepatan dalam pemilihan urutan posisi ligan. Semakin negatif nilai *Rerank Score*, semakin stabil ikatan antara ligan dan reseptor. Penurunan *Rerank Score* juga bisa terkait dengan peningkatan aktivitas senyawa atau ligan. Koefisien aktivitas dapat langsung terhubung dengan energi bebas *Gibbs* atau energi yang dilepaskan akibat interaksi ligan-reseptor [13].

Kondroitin Sulfat (KS), adalah golongan glikosaminoglikan yang memperbaiki struktur dan fungsi tulang rawan dan tulang subkondral, yang dikaitkan dengan kemampuannya untuk menurunkan aktivasi NF- κ B dan p38 MAPK, dan meningkatkan Nrf2. membantu menjaga integritas struktural dan pelumasan jaringan sendi tetapi juga memiliki beberapa sifat bermanfaat lainnya, seperti efek bioregulasi, antiinflamasi, dan antinosisseptif. Sebagian besar residu N-asetilgalaktosamin

tersulfatisasi, terutama pada posisi 4 dan 6, menjadikan KS sebagai polianion bermuatan kuat. KS bertanggung jawab atas banyak sifat biomekanik penting dari tulang rawan, seperti resistensi dan elastisitas. KS memainkan peran utama dalam memungkinkan tulang rawan untuk menahan tekanan stres selama berbagai kondisi pembebanan. Perubahan dalam struktur KS telah dijelaskan dalam jaringan OA dan rasio KS-6:CS-4 yang berkurang telah ditemukan dalam cairan sinovial dan tulang rawan pasien OA [14]. Peningkatan konsentrasi KS dapat bertindak mendukung regenerasi matriks.

Asam Hialuronat (AH), adalah polisakarida dengan berat molekul tinggi, yang tersebar luas dalam matriks ekstraseluler jaringan ikat polisakarida glikosaminoglikan yang terdiri dari asam d-glukuronat monosakarida dan N-asetil-d-glukosamin, yang membentuk rantai polisakarida linier [15]. AH, Adalah bagian utama matriks ekstraseluler, ditemukan di jaringan manusia seperti kulit, mata, jaringan ikat, dan sinovium. AH mempunyai sifat *anionic* yang tinggi, dapat menarik air sehingga meningkatkan *volume* serta memberikan dukungan *structural* viskoelastik. Penuaan menyebabkan penurunan produksi AH dan kolagen di kulit. Akibat dari penurunan produksi AH kulit kehilangan sifat viskoelastiknya, kerutan di atasnya mulai terbentuk. Peningkatan konsentrasi AH terbukti meningkatkan produksi kolagen dan mempengaruhi morfologi fibroblas. AH adalah bagian alami dari cairan *sinovial* dan tulang rawan, dan pada *Osteoarthritis*,

konsentrasi Ha menurun seiring dengan penurunan ukuran molekul AH individu, sehingga menurunkan viskositas cairan *sinovial*. [16]

Berdasarkan analisis ADMET secara *Insilico* menggunakan pkCSM (Tabel 3), terlihat bahwa AH lebih mudah diabsorpsi oleh usus dibandingkan dengan KS. Sedangkan dari aspek distribusi, metabolisme, dan ekskresi, tidak terlalu tampak perbedaan di antara kedua senyawa. Pada aspek

toksistas, berdasarkan nilai toksistas akut (LD50) pada tikus dan toksistas oral kronis tikus (LOAEL), KS dan AH tergolong non-toksik karena sesuai data Analisis ADMET tabel.3 LD 50 KS adalah 2,456 mol/kg setara dengan 34. 384.000 mg/kg dan LD 50 AH adalah 2,017mol/kg setara dengan 2.017.000.000 mg/kg jauh lebih besar dari > 5.000 mg/kg sesuai Peraturan BPOM no. 10 tahun 2022 [17].

Hasil Analisis ADMET Kondroitin Sulfat dan Asam Hialuronat & Ligan *Native* secara *Insilico* menggunakan pkCSM.

Tabel 3. Kondroitin Sulfat

Property	Model Name	Predicted Value	Unit
Absorption	Water solubility	-2.888	Numeric (log mol/L)
Absorption	Caco2 permeability	-0.721	Numeric (log Papp in 10-6 cm/s)
Absorption	Intestinal absorption (human)	0	Numeric (% Absorbed)
Absorption	Skin Permeability	-2.735	Numeric (log Kp)
Absorption	P-glycoprotein substrate	Yes	Categorical (Yes/No)
Absorption	P-glycoprotein I inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Absorption	P-glycoprotein II inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Distribution	VDss (human)	-0.524	Numeric (log L/kg)
Distribution	Fraction unbound (human)	0.521	Numeric (Fu)
Distribution	BBB permeability	-1.541	Numeric (log BB)
Distribution	CNS permeability	-4.363	Numeric (log PS)
Metabolism	CYP2D6 substrate	No	Categorical (Yes/No)
Metabolism	CYP3A4 substrate	No	Categorical (Yes/No)
Metabolism	CYP1A2 inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Metabolism	CYP2C19 inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Metabolism	CYP2C9 inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Metabolism	CYP2D6 inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Metabolism	CYP3A4 inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Excretion	Total Clearance	1.484	Numeric (log ml/min/kg)
Excretion	Renal OCT2 substrate	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	AMES toxicity	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Max. tolerated dose (human)	0.422	Numeric (log mg/kg/day)
Toxicity	hERG I inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	hERG II inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Oral Rat Acute Toxicity (LD50)	2.456	Numeric (mol/kg)
Toxicity	Oral Rat Chronic Toxicity (LOAEL)	4.183	Numeric (log mg/kg_bw/day)
Toxicity	Hepatotoxicity	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Skin Sensitisation	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	T. Pyriformis toxicity	0.285	Numeric (log ug/L)
Toxicity	Minnow toxicity	11.408	Numeric (log mM)

Tabel 4. Asam Hialuronat

Property	Model Name	Predicted Value	Unit
Absorption	Water solubility	-2.427	Numeric (log mol/L)
Absorption	Caco2 permeability	-0.479	Numeric (log Papp in 10-6 cm/s)
Absorption	Intestinal absorption (human)	5.501	Numeric (% Absorbed)
Absorption	Skin Permeability	-2.735	Numeric (log Kp)
Absorption	P-glycoprotein substrate	Yes	Categorical (Yes/No)
Absorption	P-glycoprotein I inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Absorption	P-glycoprotein II inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Distribution	VDss (human)	-1.184	Numeric (log L/kg)
Distribution	Fraction unbound (human)	0.769	Numeric (Fu)
Distribution	BBB permeability	-1.431	Numeric (log BB)
Distribution	CNS permeability	-5.104	Numeric (log PS)
Metabolism	CYP2D6 substrate	No	Categorical (Yes/No)
Metabolism	CYP3A4 substrate	No	Categorical (Yes/No)
Metabolism	CYP1A2 inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Metabolism	CYP2C19 inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Metabolism	CYP2C9 inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Metabolism	CYP2D6 inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Metabolism	CYP3A4 inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Excretion	Total Clearance	1.497	Numeric (log ml/min/kg)
Excretion	Renal OCT2 substrate	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	AMES toxicity	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Max. tolerated dose (human)	1.402	Numeric (log mg/kg/day)
Toxicity	hERG I inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	hERG II inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Oral Rat Acute Toxicity (LD50)	2.077	Numeric (mol/kg)
Toxicity	Oral Rat Chronic Toxicity (LOAEL)	3.177	Numeric (log mg/kg_bw/day)
Toxicity	Hepatotoxicity	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Skin Sensitisation	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	T. Pyriformis toxicity	0.285	Numeric (log ug/L)
Toxicity	Minnow toxicity	7.375	Numeric (log mM)

Tabel 5. Ligan *Native*

Property	Model Name	Predicted Value	Unit
Absorption	Water solubility	-3.337	Numeric (log mol/L)
Absorption	Caco2 permeability	1.303	Numeric (log Papp in 10-6 cm/s)
Absorption	Intestinal absorption (human)	91.851	Numeric (% Absorbed)
Absorption	Skin Permeability	-2.874	Numeric (log Kp)
Absorption	P-glycoprotein substrate	Yes	Categorical (Yes/No)
Absorption	P-glycoprotein I inhibitor	No	Categorical (Yes/No)

Absorption	P-glycoprotein II inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Distribution	VDss (human)	0.246	Numeric (log L/kg)
Distribution	Fraction unbound (human)	0.148	Numeric (Fu)
Distribution	BBB permeability	0.376	Numeric (log BB)
Distribution	CNS permeability	-3.328	Numeric (log PS)
Metabolism	CYP2D6 substrate	Yes	Categorical (Yes/No)
Metabolism	CYP3A4 substrate	Yes	Categorical (Yes/No)
Metabolism	CYP1A2 inhibitor	Yes	Categorical (Yes/No)
Metabolism	CYP2C19 inhibitor	Yes	Categorical (Yes/No)
Metabolism	CYP2C9 inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Metabolism	CYP2D6 inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Metabolism	CYP3A4 inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Excretion	Total Clearance	-0.108	Numeric (log ml/min/kg)
Excretion	Renal OCT2 substrate	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	AMES toxicity	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Max. tolerated dose (human)	-0.072	Numeric (log mg/kg/day)
Toxicity	hERG I inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	hERG II inhibitor	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Oral Rat Acute Toxicity (LD50)	2.478	Numeric (mol/kg)
Toxicity	Oral Rat Chronic Toxicity (LOAEL)	1.507	Numeric (log mg/kg_bw/day)
Toxicity	Hepatotoxicity	Yes	Categorical (Yes/No)
Toxicity	Skin Sensitisation	No	Categorical (Yes/No)
Toxicity	T. Pyriformis toxicity	0.866	Numeric (log ug/L)
Toxicity	Minnow toxicity	-0.209	Numeric (log mM)

SIMPULAN

Suatu mekanisme kerja penghambat *Osteoarthritis* ESM melalui jalur regulasi MMP13 secara *Insilico* dapat dibuktikan melalui penelitian ini. Terdapat 2 senyawa dalam ESM yaitu Kondroitin Sulfat dan Asam Hialuronat berdasarkan penambatan molekulernya terhadap protein rantai D MMP13 (4L19 [D]) memiliki *Rerank score* yang lebih negatif dari 1UA_309(MBSTCP). Dengan demikian kedua senyawa yang terkandung di ESM memiliki potensi sebagai *inhibitor* MMP13 serta meregulasi jalur persinyalan TP53 yang berperan dalam mekanisme kerja menghambat OAL. Hasil analisis ADMET secara *Insilico* menunjukkan Kondroitin Sulfat LD50 2,456 mol/kg setara dengan 34.384.000mg/kg dan Asam Hialuronat 2,017 mol/kg setara dengan 2.017.000.000 mg/kg diprediksi adalah non toksik.

SARAN

Perlu di lakukan uji *in vitro* dan *in vivo* ESM untuk mengetahui mekanisme kerja ESM sebagai pencegahan *Osteoarthritis* .

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan Terima kasih kepada Prof. Dr. Apt. Siswandono, MS dan Prof. Dr. apt. Esti Mumpuni, M.Si atas bimbingannya.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Chan Hu, Melanie Ecker. 2021. Overview of MMP-13 as a Promising Target for the Treatment of Osteoarthritis. *Int. J. Mol. Sci.* 22(4): 1742.
- [2] Balaz, M. 2014. Eggshell membrane biomaterial as a platform for applications in materials science. *Acta Biomaterial*, 10(9): 3827–3843

- [3] Guccione, A. A., Felson, D. T., Anderson, J. J., Anthony, J. M., Zhang, Y., Wilson, P. W., & Kannel, W. B. 1994. The effects of specific medical conditions on the functional limitations of elders in the Framingham Study. *American Journal of Public Health*, 84 (3): 351–358.
- [4] Cui, A., Li, H., Wang, D., Zhong, J., Chen, Y., & Lu, H. 2020. Global, regional prevalence, incidence and risk factors of knee osteoarthritis in population-based studies. *EClinicalMedicine*, 29.
- [5] Roos, E. M., & Arden, N. K. 2016. Strategies for the prevention of knee osteoarthritis. *Nature Reviews Rheumatology*, 12(2): 92–101.
- [6] Gregory, M. H., Capito, N., Kuroki, K., Stoker, A. M., Cook, J. L., & Sherman, S. L. 2012. A review of translational animal models for knee osteoarthritis. *Hindawi Publishing Corporation Arthritis* vol. 2012(14).
- [7] <https://ayosehat.kemkes.go.id/topik-penyakit/kelainan-muskuloskeletal/osteoarthritis> , diakses tanggal 28 Oktober 2024 jam 19.45.
- [8] Kemenkes RI. Indonesia Masuki Periode Aging Population. Kementerian Kesehatan RI [Internet].2019;1–3. Available from: <https://www.kemkes.go.id/article/view/19070500004/indonesiamasuki-periode-aging-population.html> diakses tanggal 30 Oktober 2024 jam 19.55.
- [9] Ika Wardoyo SS, Rosadi R, Amanati S, Putra YW. Efektifitas.2012. Modalitas Latihan Terhadap Penurunan Nyeri Pada Lansia Dengan Osteoarthritis Lutut Di Kota Malang. *Physiother Heal Sci* [Internet].2(2):39–49. Available from: <https://ejournal.umm.ac.id/index.php/physiohs/article/view/15180>
- [10] Chunhao Han et.al. 2023. Advances in eggshell membrane separation and solubilization technologies. *Front. Vet. Sci.* Vol. 10.
- [11] Timothy P Spicer 1, Jianwen Jiang, Alexander B Taylor, Jun Yong Choi, P John Hart, William R Roush, Gregg B Fields, Peter S Hodder, Dmitriy Minond. 2014. Characterization of selective exosite-binding inhibitors of matrix metalloproteinase 13 that prevent articular cartilage degradation in vitro. *Journal of Medicinal Chemistry* Vol 57(22).
- [12] Molegro ApS. 2011. Molegro Virtual Docker User Manual. Høegh-Guldbergs Gade 10, Building 1090 DK-8000 Aarhus C Denmark. MVD.2008. (2.4): 1-227
- [13] Ingenmey J, Blasius J, Marchelli G, Riegel A, Kirchner B. 2018. A cluster approach for activity coefficients: General theory and implementation. *Journal of Chemical & Engineering Data*. 2018; 64(1):255–61. doi: 10.1021/acs.jced.8b00779
- [14] Shinmei M., Miyauchi S., Machida A., Miyazaki K. 1992. Kuantifikasi kondroitin 4-sulfat dan kondroitin 6-sulfat dalam cairan sendi patologis. *Arthritis Rheum.* 35: 1304–1308. DOI. PubMed.
- [15] Kim JH, Moon MJ, Kim DY, Heo SH, Jeong YY. 2018. Hyaluronic Acid-Based Nanomaterials for Cancer Therapy. *Polymers (Basel)*. 2018 Oct 12;10(10). PMC free article. PubMed.
- [16] Felson DT, Anderson JJ. 2002. Hyaluronate sodium injections for osteoarthritis: hope, hype, and hard truths. *Arch Intern Med.* 2002 Feb 11;162(3):245-7. PubMed.
- [17] Peraturan Badan Pengawas Obat Dan Makanan Nomor 10 Tahun 2022: Tentang Pedoman Uji Toksisitas Praktikum Secara In Vivo. Dirjen POM RI.