



DOI: <https://doi.org/10.38035/jim.v4i1>
<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Kulit Kayu Bangkal (*Nauclea Subdita*) sebagai Antihiperpigmentasi pada Bedak Dingin Kalimantan

Dwiana Savitri^{1*}, Asima Rohana Siagian²

¹Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin, Indonesia, vinmadwiana@gmail.com

²Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin, Indonesia, rohanapepsi@gmail.com

*Corresponding Author: vinmadwiana@gmail.com¹

Abstract: *One of the skin problems that is often encountered is hyperpigmentation which occurs due to excessive melanin synthesis. Hyperpigmentation can be overcome with anti-hyperpigmentation agents that are useful in inhibiting the activity of the tyrosinase enzyme which plays a role in catalyzing the melanin biosynthesis process. Bangkal bark (*Nauclea subdita*) is believed to have an anti-hyperpigmentation agent because it is often used as a cold powder by the people of Kalimantan. This study aims to determine the potential of active compounds of bangkal bark extract in inhibiting tyrosinase enzymes which will be compared with natural ligands and their comparator ligands in silico. The in silico test was carried out by molecular tethering with stages, namely ligand preparation, tyrosinase optimization, and validation and tethering. The molecular tethering method has been declared valid due to the RMSD obtained $< 2 \text{ \AA}$. The results obtained showed that there were several compounds that showed inhibition of tyrosinase enzymes characterized by low free energy values ($-\Delta G$), one of which was Urolithin B 3-O- glucuronide with an energy of -8.81 kcal/mol . The results of the type of bond that occurred in the study were obtained that all test compounds could interact with the active side of the tyrosinase enzyme with the number of interactions ranging from one to four and in the form of hydrogen bonds. Conclusion is the active compounds in bangkal bark extract can be used as an alternative anti-hyperpigmentation agent.*

Keywords: *hyperpigmentation, bark of bangkal (*Nauclea subdita*), molecular docking, tyrosinase*

Abstrak: Salah satu masalah kulit yang sering ditemui adalah hiperpigmentasi yang terjadi akibat adanya sintesis melanin berlebihan. Hiperpigmentasi dapat diatasi dengan agen anti hiperpigmentasi yang berguna dalam menghambat aktivitas enzim tirosinase yang berperan dalam mengkatalisis proses biosintesis melanin. Kulit kayu bangkal (*Nauclea subdita*) dipercaya memiliki agen anti hiperpigmentasi karena sering digunakan sebagai bedak dingin oleh masyarakat Kalimantan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi senyawa aktif ekstrak kulit kayu bangkal dalam menghambat enzim tirosinase yang akan dibandingkan dengan ligan alami dan ligan pembandingnya secara *in silico*. Uji *in silico* dilakukan secara penambatan molekuler dengan tahapan yaitu preparasi ligan, optimasi tirosinase serta validasi

dan penambatan. Metode penambatan molekuler telah dinyatakan valid karena RMSD yang diperoleh $< 2 \text{ \AA}$. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa terdapat beberapa senyawa yang menunjukkan penghambatan terhadap enzim tirosinase ditandai dengan rendahnya nilai energi bebas ($-\Delta G$) salah satunya adalah *Urolithin B 3-O-glucuronide* dengan energi sebesar $-8,81 \text{ kcal/mol}$. Hasil jenis ikatan yang terjadi dalam penelitian didapatkan semua senyawa uji dapat berinteraksi dengan bagian sisi aktif enzim tirosinase dengan jumlah interaksi berkisar antara satu sampai empat dan dalam bentuk ikatan hidrogen. Kesimpulan senyawa aktif ekstrak kulit kayu bangkal dapat dijadikan salah satu alternatif antihiperpigmentasi.

Kata Kunci: hiperpigmentasi, kulit kayu bangkal (*Nauclea subdita*), penambatan molekuler, tirosinase

PENDAHULUAN

Paparan sinar matahari yang berlebihan dapat menimbulkan berbagai dampak negatif terhadap kulit, seperti penuaan dini, hiperpigmentasi, hingga kanker kulit (Adilah et al., 2020). Untuk melindungi kulit dari efek buruk sinar ultraviolet (UV), penggunaan produk tabir surya menjadi salah satu solusi yang umum digunakan masyarakat (Kusumanti et al., 2017). Namun, seiring meningkatnya kesadaran akan pentingnya penggunaan bahan alami, masyarakat mulai beralih pada pemanfaatan bahan alam sebagai alternatif produk perawatan kulit, termasuk tabir surya dan produk anti-hiperpigmentasi (Amanda et al., 2023; Fadillah, 2021).

Berbagai penelitian telah menunjukkan potensi tanaman lokal sebagai bahan dasar dalam sediaan kosmetik tradisional, seperti ekstrak temulawak, bedak dingin berbahan dasar beras, singkong, dan pati kombinasi lainnya (Az Zahra & Mari, 2023; Noena & Base, 2022). Selain itu, kulit buah delima, daun tabat barito, dan kulit kayu bangkal juga diketahui mengandung senyawa bioaktif yang berperan sebagai antioksidan dan inhibitor enzim tirosinase yang berperan dalam pembentukan melanin (Bardi et al., 2016; Meily et al., 2021; Listiano et al., 2021).

Pemanfaatan teknik *in silico* melalui metode molecular docking kini semakin banyak digunakan dalam meneliti potensi senyawa bioaktif untuk menghambat enzim tirosinase secara efisien dan ekonomis (Luh & Putu, 2022; Puspita et al., 2022; Aziz et al., 2022). Metode ini memungkinkan para peneliti untuk memprediksi interaksi molekul secara komputerisasi sebelum melakukan uji laboratorium (*wet lab*), sehingga mempercepat proses skrining kandidat senyawa aktif (Nautiyal & Wairkar, 2021; Noori & Spanagel, 2013).

Dengan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi potensi bahan alam lokal sebagai agen anti-hiperpigmentasi melalui pendekatan *in silico*, serta memberikan kontribusi terhadap pengembangan kosmetika berbahan alami yang aman dan berkelanjutan.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan metode *in silico* yang menggunakan pendekatan molecular docking untuk mengkaji interaksi antara senyawa aktif dari ekstrak kulit kayu bangkal (*Nauclea subdita*) dengan enzim tirosinase sebagai agen hiperpigmentasi. Penelitian dilakukan pada bulan September hingga Oktober 2024 di dua lokasi, yakni Universitas Muhammadiyah Banjarmasin untuk proses molecular docking dan Pusat Studi Biofarmakologi Tropika Institut Pertanian Bogor untuk analisis Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry (LC-HRMS). Instrumen utama yang digunakan adalah laptop dengan spesifikasi prosesor Intel® Core™ i5-10210U, RAM 8 GB, sistem operasi Windows 10 64-bit, serta perangkat lunak pendukung seperti AutoDock 4.2,

Avogadro, Discovery Studio Visualizer, LigPlot+, PyMOL, dan Notepad++.

Proses penelitian diawali dengan analisis LC-HRMS terhadap ekstrak kulit kayu bangkal untuk mengidentifikasi senyawa aktif yang digunakan sebagai ligan uji. Senyawa yang diperoleh kemudian dipersiapkan dalam bentuk struktur 3D dan dioptimasi dengan software Avogadro dan AutoDockTools. Selain ligan uji, digunakan pula ligan alami (native ligand) yaitu OTR (tropolone) dan ligan pembanding berupa kojic acid. Proses validasi metode dilakukan melalui redocking untuk memastikan ketepatan prediksi interaksi. Setelah itu, dilakukan penambatan senyawa terhadap enzim tirosinase (kode PDB 2Y9X) dan hasil docking divisualisasikan secara dua dimensi dengan LigPlot+ dan tiga dimensi dengan PyMOL untuk mengetahui jenis dan jumlah interaksi serta residu asam amino yang terlibat.

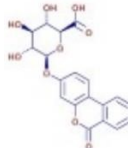
Analisis data dilakukan dengan pendekatan bioinformatika yang mencakup pengukuran nilai binding affinity (dalam satuan Kcal/mol), identifikasi jenis dan jumlah interaksi, serta residu asam amino yang terlibat dalam ikatan antara senyawa aktif dan enzim tirosinase. Semakin negatif nilai binding affinity, maka semakin kuat afinitas ikatan antara ligan dan reseptor, yang menunjukkan potensi senyawa sebagai inhibitor tirosinase. Hasil analisis ini disajikan dalam bentuk visualisasi dua dan tiga dimensi, serta dibandingkan antara ligan uji, ligan alami, dan ligan pembanding untuk menentukan efektivitas masing-masing senyawa sebagai agen antihiperpigmentasi.

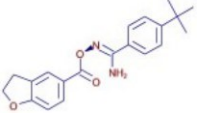
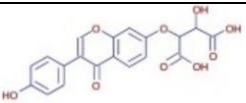
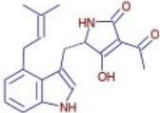
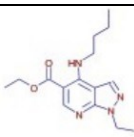
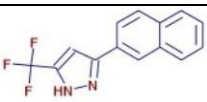
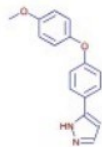
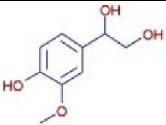
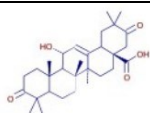
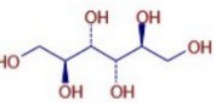
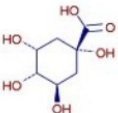
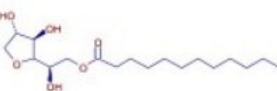
HASIL DAN PEMBAHASAN

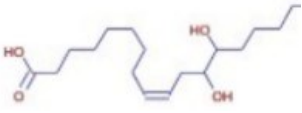
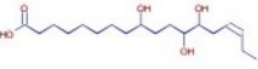
Senyawa aktif yang melimpah pada ekstrak kulit kayu bangkal seperti fenolik dan flavonoid memiliki potensi untuk menghambat aktivitas enzim tirosinase sehingga dapat mengurangi pembentukan melanin berlebih pada kulit (Ambarsari, 2022). Simulasi penambatan (*docking*) molekul ini bertujuan untuk mengetahui adanya potensi serta bagaimana interaksi senyawa aktif pada ekstrak kulit kayu bangkal dalam menghambat enzim tirosinase pada tingkat molekuler menggunakan program *AutoDock Tools*. Program *AutoDock* merupakan program *docking* yang banyak digunakan dan dirilis di bawah lisensi *open source* (Purwanto, 2021).

Berdasarkan hasil LC-HRMS (*Liquid Chromatography High Resolution Mass Spectrometry*) yang dapat dilihat pada tabel 5.1, sebanyak 101 ligan dari kulit kayu bangkal dilakukan proses penapisan virtual dan bioavailabilitas hingga didapat 16 ligan yang berpotensi sebagai inhibitor tirosinase. Semua struktur tiga dimensi ligan diunduh pada laman *PubChem* yang merupakan basis data kimia publik yang berisi informasi tentang zat kimia dan aktivitas biologisnya (Safithri, 2022). Laman ini dapat diakses di <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Ligan dari hasil LC-HRMS tersebut kemudian di preparasi dengan menggunakan perangkat lunak *Discovery Studio Visualizer* (DSV versi 4.0), dan dilakukan minimisasi energi pada ligan sehingga interaksi yang dihasilkan oleh ligan akan lebih stabil (Ambarsari, 2022).

Tabel 5.1 Identifikasi Senyawa Aktif Hasil Ekstraksi Kulit Kayu Bangkal

No	Senyawa	Formula	Struktur
1.	Urolithin B 3-O- glucuronide	C19 H16 O9	

2.	4-(<i>tert</i> -butyl)- <i>N'</i> -[(2,3-dihydro-1-benzofuran-5-ylcarbonyl)oxy]benzene carboximidamide	I22 N2 O3	
3.	2-Hydroxy-3-{[3-(4-hydroxyphenyl)-4-oxo-4H-chromen-7-yl]oxy}succinic acid	C19 H14 O9	
4.	(5 <i>S</i>)-3-Acetyl-1,5-dihydro-4-hydroxy-5-[[4-(3-methyl-2-buten-1-yl)-1 <i>H</i> -indol-3-yl]methyl]-2 <i>H</i> -pyrrol-2-one	I22 N2 O3	
5.	Cartazolate	I22 N4 O2	
6.	3-(2-naphthyl)-5-(trifluoromethyl)-1 <i>H</i> -pyrazole	H9 F3 N2	
7.	5-[4-(4-methoxyphenoxy)phenyl]-1 <i>H</i> -pyrazole	I14 N2 O2	
8.	MHPG	C9 H12 O4	
9.	Propapyriogenin A2	C30 H44 O5	
10.	<i>D</i> -(-)-Mannitol	C6 H14 O6	
11.	<i>D</i> -(-)-Quinic acid	C7 H12 O6	
12.	Sorbitan, monododecanoate	C18 H34 O6	
13.	1-(Carboxymethyl)cyclohexanecarboxylic acid	C9 H14 O4	

14.	<i>(±)12(13)-DiHOME</i>	C18 H34 O4	
15.	<i>(15Z)-9,12,13-Trihydroxy-15-octadecenoic acid</i>	C18 H34 O5	
16.	<i>Azelaic acid</i>	C9 H16 O4	

Evaluasi sifat farmakokinetik obat yang meliputi proses absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi dilakukan dengan mengacu pada aturan Lipinski. Aturan ini mencakup kriteria seperti massa molekul relatif di bawah 500 Dalton, jumlah donor ikatan hidrogen tidak lebih dari 5, jumlah akseptor ikatan hidrogen tidak lebih dari 10, nilai log P di bawah 5, serta rentang nilai refraktivitas molar antara 40 hingga 130 (Safithri, 2022).

Seluruh jenis ligan, baik yang berasal dari senyawa alami, ligan uji, maupun ligan pembanding, telah dievaluasi menggunakan parameter dari aturan tersebut. Hasil dari analisis yang berkaitan dengan kelarutan serta kemampuan absorpsi ligan berdasarkan aturan Lipinski ditampilkan secara lengkap pada tabel 5.2.

Tabel 5.2. Hasil Analisis Kelarutan dan Daya Serap Ligan Berdasarkan Aturan Lipinski

No	Senyawa	Bobot molekul	Donor ikatan hidrogen	Akseptor ikatan hidrogen	Log p	Refraktivitas molar	Keterangan
1	OTR (<i>Tropolone</i>)	122.12	1	2	1.41	34.74	Memenuhi
2	<i>Kojic Acid</i> (obat)	142.11	2	4	1.12	33.13	Memenuhi
3	<i>Urolithin B 3-O-glucuronide</i>	388.32	4	9	1.90	94.75	Memenuhi
4	<i>4-(tert-butyl)-N'-[(2,3-dihydro-1-benzofuran-5-ylcarbonyl)oxy]benzenecarboximidamide</i>	338.400	2	5	4.96	95.6	Memenuhi
5	<i>2-Hydroxy-3-[(3-(4-hydroxyphenyl)-4-oxo-4H-chromen-7-yl)oxy]succinic acid</i>	386.309	4	9	2.34	91.2	Memenuhi
6	<i>(5S)-3-Acetyl-1,5-dihydro-4-hydroxy-5-[[4-(3-methyl-2-buten-1-yl)-1H-indol-3-yl]methyl]-2H-pyrrol-2-one</i>	338.40	3	3	2.77	101.93	Memenuhi
7	<i>Cartazolate</i>	290.361	1	6	4.83	81.4	Memenuhi
8	<i>3-(2-naphthyl)-5-(trifluoromethyl)-1H-pyrazole</i>	262.230	1	2	4.83	66.2	Memenuhi

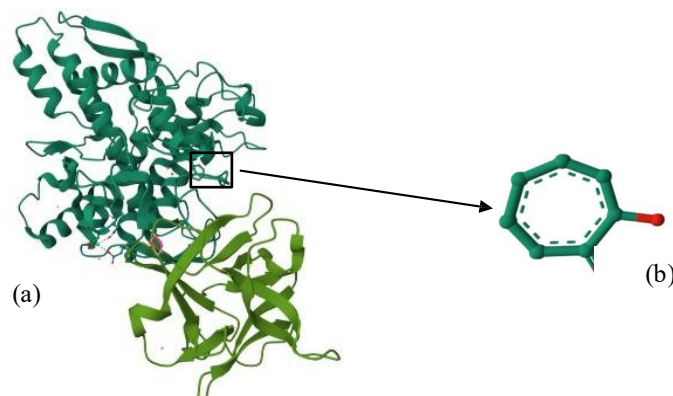
9	5-[4-(4-methoxyphenoxy)phenyl]-1H-pyrazole	266.295	1	4	3.33	76.5	Memenuhi
10	MHPG	184.189	3	4	-1.00	47.4	Memenuhi
11	Propapyriogenin A2	484.667	2	5	4.55	133.8	Memenuhi
12	D-(-)-Mannitol	182.172	6	6	-4.67	38.9	Memenuhi
13	D-(-)-Quinic acid	192.167	5	6	-2.01	40.0	Memenuhi
14	Sorbitan, monododecanoate	346.459	3	6	4.47	91.4	Memenuhi
15	1-(Carboxymethyl)cyclohexanecarboxylic acid	186.205	2	4	1.22	44.6	Memenuhi
16	(±)12(13)-DiHOME	314.460	3	4	4.14	90.1	Memenuhi
17	(15Z)-9,12,13-Trihydroxy-15-octadecenoic acid	330.460	4	5	2.06	91.5	Memenuhi
18	Azelaic acid	188.221	2	4	1.33	46.9	Memenuhi

Berdasarkan hasil identifikasi yang disajikan dalam Tabel 5.2, seluruh ligan yang dianalisis menunjukkan massa molekul relatif di bawah 500 Dalton, sesuai dengan salah satu kriteria aturan Lipinski. Dari segi jumlah donor ikatan hidrogen, semua ligan memenuhi kriteria yaitu kurang dari lima, kecuali D-(-)-Mannitol dan D-(-)-Quinic acid yang memiliki jumlah lebih tinggi. Akseptor ikatan hidrogen dari seluruh ligan juga berada di bawah angka sepuluh, masih sesuai dengan parameter yang ditetapkan dalam aturan tersebut.

Lebih lanjut, nilai log P dari seluruh ligan juga tercatat kurang dari lima, yang menunjukkan potensi kelarutan yang baik dalam lingkungan lipid. Dari sisi nilai refraktivitas molar, hampir semua ligan berada dalam rentang 40–130 sesuai kriteria, kecuali beberapa ligan seperti Tropolone, Kojic Acid, Propapyriogenin A2, dan D-(-)-Mannitol yang tidak memenuhi batas tersebut. Secara umum, ligan yang memenuhi tiga hingga lima kriteria Lipinski masih dianggap berpotensi untuk dikembangkan sebagai kandidat obat. Oleh karena itu, semua ligan alami, ligan pembanding, dan ligan uji dalam penelitian ini telah memenuhi persyaratan dasar dari aturan Lipinski (Safithri, 2023).

Penelitian ini menggunakan reseptor berupa kristal protein tirosinase dengan kode PDB ID 2Y9X. Reseptor tersebut merupakan struktur tiga dimensi dari enzim tirosinase yang sudah dikristalkan dan memiliki empat subunit, yaitu A, B, C, dan D, yang semuanya memiliki fungsi biologis yang sama. Dari keempat subunit tersebut, hanya satu yang dipilih untuk analisis lebih lanjut, yaitu subunit yang memiliki afinitas pengikatan tertinggi terhadap ligan alami yang sudah menempel pada reseptor, yakni tropolone (OTR).

Resolusi struktur kristal 2Y9X yang digunakan dalam studi ini adalah 2,78 Å, yang cukup tinggi untuk mendukung akurasi analisis interaksi molekuler. Preparasi protein dilakukan untuk menghilangkan native ligand dari struktur reseptor agar diperoleh bentuk reseptor yang siap digunakan dalam proses validasi metode docking. Visualisasi struktur protein dan ligan alami yang tertambat pada reseptor dapat diamati lebih lanjut dalam Gambar 5.1, yang memperlihatkan konfigurasi awal reseptor sebelum proses simulasi dilakukan.



Gambar 5.1. (a) Protein Kristalisasi 2Y9X rantai B (b) *Native Ligand Tropolone*

Proses validasi dalam metode penambatan molekuler merupakan tahap penting yang dilakukan dengan cara menambatkan kembali ligan alami, yaitu tropolone, ke dalam struktur reseptor protein tirosinase dengan kode PDB ID 2Y9X. Tujuan utama dari proses ini adalah untuk memastikan bahwa daerah penambatan atau gridbox yang digunakan benar-benar mencakup sisi aktif dari enzim tersebut. Sisi aktif ini adalah bagian penting dari reseptor tempat interaksi kimia antara ligan dan protein terjadi, sehingga penentuan lokasi yang tepat menjadi krusial untuk mendapatkan hasil simulasi yang akurat. Validasi ini juga menjadi dasar untuk menentukan apakah metode yang digunakan dalam penambatan senyawa uji selanjutnya dapat dianggap andal dan dapat dipertanggungjawabkan secara ilmiah (Safithri, 2022).

Salah satu parameter penting yang digunakan untuk mengevaluasi keberhasilan proses validasi adalah nilai RMSD (Root Mean Square Deviation), yaitu ukuran statistik yang menunjukkan deviasi rata-rata posisi atom-atom ligan antara konformasi hasil penambatan dengan konformasi aslinya. Nilai RMSD yang kurang dari 2,0 Å merupakan indikator bahwa metode penambatan memiliki akurasi tinggi dan dapat dipercaya. Dalam penelitian ini, hasil redocking antara tropolone dan reseptor 2Y9X menghasilkan nilai RMSD sebesar 1,97 Å. Nilai ini menunjukkan bahwa posisi ligan hasil penambatan mendekati posisi aslinya dalam kristal protein, sehingga metode yang digunakan dapat dikatakan valid. Selain itu, diperoleh juga nilai energi afinitas sebesar -4,99 kcal/mol yang menunjukkan bahwa interaksi antara ligan dan reseptor cukup kuat dan bersifat stabil secara termodinamika.

Nilai RMSD yang semakin kecil menunjukkan bahwa penambatan ligan menghasilkan posisi atom yang lebih akurat dibandingkan konformasi asalnya. Dalam konteks ini, posisi ligan yang mendekati struktur awalnya menandakan bahwa proses docking berhasil merepresentasikan keadaan alami dari interaksi antara ligan dan reseptor. Validasi ini menjadi dasar untuk melanjutkan proses penambatan terhadap berbagai senyawa uji yang berasal dari ekstrak kulit kayu bangkal. Dengan metode yang telah tervalidasi, peneliti dapat yakin bahwa hasil docking yang diperoleh pada senyawa-senyawa uji tersebut memiliki tingkat keakuratan yang tinggi.

Selanjutnya, proses penambatan molekuler dilakukan untuk menilai potensi setiap ligan uji dalam berinteraksi dengan reseptor tirosinase. Tujuan utama dari tahap ini adalah untuk mengukur nilai energi afinitas yang dihasilkan dari interaksi tersebut. Energi afinitas ini menggambarkan seberapa kuat daya tarik antara ligan dan sisi aktif dari reseptor. Semakin kecil atau semakin negatif nilai energi afinitas yang diperoleh, maka semakin besar pula kemampuan ligan tersebut untuk menghambat aktivitas enzim, karena interaksi yang terbentuk lebih stabil.

Setelah penambatan dilakukan, hasil yang diperoleh tidak hanya dianalisis dalam bentuk angka, tetapi juga divisualisasikan dalam dua dimensi (2D) dan tiga dimensi (3D). Visualisasi ini berguna untuk memahami jenis dan pola interaksi yang terjadi antara ligan dengan asam amino pada sisi aktif reseptor, misalnya interaksi hidrogen, ikatan elektrostatik, atau interaksi hidrofobik. Informasi visual ini membantu peneliti dalam mengevaluasi kualitas dan relevansi dari interaksi ligan terhadap reseptor.

Energi afinitas merupakan parameter penting dalam menentukan efektivitas suatu ligan sebagai inhibitor enzim. Nilai energi yang rendah menunjukkan bahwa ligan dapat berikatan dengan reseptor dengan lebih mudah, menandakan bahwa proses penambatan berlangsung secara efisien dan tidak membutuhkan banyak energi. Hal ini sejalan dengan prinsip dalam termodinamika, di mana suatu reaksi kimia cenderung berlangsung secara spontan jika perubahan energi bebas Gibbs-nya (ΔG) bernilai negatif.

Dengan kata lain, ligan dengan nilai energi afinitas yang lebih rendah memiliki kecenderungan lebih tinggi untuk membentuk ikatan yang stabil dengan reseptor dibandingkan ligan lain dengan nilai energi yang lebih tinggi. Semakin kuat dan stabil ikatan yang terbentuk, maka semakin besar pula potensi ligan tersebut untuk bertindak sebagai inhibitor, yaitu senyawa yang mampu menghambat kerja enzim secara efektif.

Hubungan antara energi afinitas dan konstanta inhibisi juga menunjukkan korelasi yang erat. Konstanta inhibisi (K_i) adalah ukuran yang menunjukkan konsentrasi ligan yang dibutuhkan untuk menghambat setengah aktivitas enzim. Nilai energi afinitas yang rendah umumnya sejalan dengan nilai konstanta inhibisi yang rendah pula. Artinya, semakin kecil nilai energi afinitas suatu ligan, maka semakin kecil pula konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat aktivitas enzim, dan ini mengindikasikan efektivitas yang lebih tinggi dari ligan tersebut sebagai kandidat obat.

Hasil dari proses docking ini secara keseluruhan akan disajikan dalam bentuk tabel yang memuat informasi mengenai nilai energi afinitas dan konstanta inhibisi dari masing-masing ligan yang diuji. Melalui tabel tersebut, peneliti dapat membandingkan kinerja tiap ligan dan menentukan ligan mana yang memiliki potensi paling tinggi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai senyawa obat, khususnya untuk menghambat enzim tirosinase. Semua data ini menjadi bahan pertimbangan penting dalam proses penemuan dan pengembangan obat berbasis senyawa alami.

Dengan demikian, proses validasi dan penambatan molekuler tidak hanya memberikan gambaran teoritis mengenai potensi ligan sebagai inhibitor, tetapi juga memberikan data kuantitatif dan visual yang penting untuk mendukung keputusan dalam pengembangan senyawa bioaktif. Tahapan ini menjadi salah satu fondasi penting dalam studi *in silico* yang bertujuan untuk mempercepat proses skrining awal sebelum dilanjutkan ke tahap eksperimental lanjutan seperti uji *in vitro* atau *in vivo*.

Tabel 5.3 Energi Afinitas dan Konstanta Inhibisi Ligan Hasil Penambatan Molekuler

No.	Senyawa	Energi Binding (ΔG)	Konstanta Inhibisi
1.	OTR (<i>Tropolone</i>)	-4,99	220.19 μ M
2.	<i>Kojic Acid</i> (obat)	-4,06	1.06 mM
3.	<i>Urolithin B 3-O-glucuronide</i>	-8,81	350.64 nM
4.	<i>4-(tert-butyl)-N'-[(2,3-dihydro-1-benzofuran-5-ylcarbonyl)oxy]benzenecarboximidamide</i>	-8,28	848.83 nM
5.	<i>2-Hydroxy-3-{[3-(4-hydroxyphenyl)-4-oxo-4H-chromen-7-yl]oxy}succinic acid</i>	-7,21	5.17 μ M

6.	<i>(5S)-3-Acetyl-1,5-dihydro-4-hydroxy-5-[[4-(3-methyl-2-buten-1-yl)-1H-indol-3-yl]methyl]-2H-pyrrol-2-one</i>	-6,96	7.96 uM
7.	<i>Cartazolate</i>	-6,45	18.72 uM
8.	<i>3-(2-naphthyl)-5-(trifluoromethyl)-1H-pyrazole</i>	-6,38	21.16 uM
9.	<i>5-[4-(4-methoxyphenoxy)phenyl]-1H-pyrazole</i>	-6,23	27.01 uM
10.	<i>MHPG</i>	-5,83	53.42 uM
11.	<i>Propapyriogenin A2</i>	-5,81	55.06 uM
12.	<i>D-(-)-Mannitol</i>	-5,10	182.75 uM
13.	<i>D-(-)-Quinic acid</i>	-4,05	1.08 mM
14.	<i>Sorbitan, monododecanoate</i>	-3.67	2.03 mM
15.	<i>1-(Carboxymethyl)cyclohexanecarboxylic acid</i>	-3,18	4.65 mM
16.	<i>(±)12(13)-DiHOME</i>	-3,00	6.31 mM
17.	<i>(15Z)-9,12,13-Trihydroxy-15-octadecenoic acid</i>	-1,60	67.04 mM
18.	<i>Azelaic acid</i>	-1,58	69.85 mM

Berdasarkan tabel 5.3 didapatkan tiga senyawa dengan nilai *binding affinity* terendah yaitu *Urolithin B 3-O-glucuronide* dengan energi sebesar -8,81 kcal/mol, 4 - (*tert-butyl*) - *N'* - [(2,3 - dihydro - 1 - benzofuran - 5 - ylcarbonyl) oxy] benzenecarboximidamide -8,28 kcal/mol, dan 2-Hydroxy-3-{[3-(4-hydroxyphenyl)- 4-oxo-4H-chromen-7-yl]oxy}succinic acid -7,21 kcal/mol. Selain itu juga terdapat 7 senyawa yang memiliki nilai lebih rendah daripada native ligand yaitu (*5S*)-3- *Acetyl-1,5-dihydro - 4 - hydroxy - 5 - [[4-(3-methyl-2-buten-1-yl)-1H-indol-3- yl]methyl]-2H- pyrrol-2-one* sebesar -6,96 kcal/mol, *Cartazolate* - 6,45 kcal/mol, *3-(2-naphthyl)-5-(trifluoromethyl)-1H-pyrazole* -6,38 kcal/mol, *5 - [4 - (4-methoxyphenoxy)phenyl] - 1H - pyrazole* -6,23 kcal/mol, senyawa *MHPG* - 5,83 kcal/ mol, senyawa *Propapyriogenin A2* kcal/mol dan senyawa *D - (-) - Mannitol* -5,10 kcal/mol, yang di mana nilai energi bebas *native ligand* sendiri yaitu sebesar -4.99 kcal/mol.

Untuk memahami interaksi antara ligan dan reseptor secara lebih mendalam, dilakukan analisis lanjutan terhadap hasil penambatan molekuler menggunakan teknik visualisasi dalam dua dimensi. Proses ini dibantu oleh perangkat lunak LigPlot+, yang secara otomatis menghasilkan representasi grafis dari interaksi antara ligan dan residu asam amino pada reseptor target. Dalam hasil visualisasi ini, ditampilkan dengan jelas residu-residu asam amino yang terlibat secara langsung dalam pembentukan ikatan dengan ligan. Ikatan hidrogen serta interaksi hidrofobik yang terjadi antara kedua molekul juga turut ditampilkan dengan indikator visual yang berbeda. Hal ini memberikan gambaran menyeluruh mengenai jenis dan posisi interaksi yang terjadi pada tingkat molekuler.

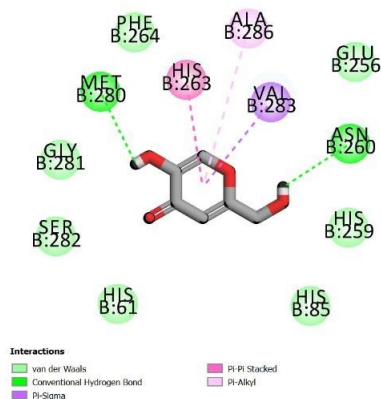
Salah satu aspek penting yang dapat diperoleh dari visualisasi dua dimensi ini adalah informasi mengenai ikatan hidrogen yang terbentuk antara ligan dan protein. Data ini mencakup atom spesifik dari asam amino yang terlibat dalam ikatan serta panjang ikatan yang terbentuk. Panjang ikatan hidrogen menjadi indikator kekuatan interaksi, karena semakin pendek ikatannya, maka umumnya interaksi tersebut semakin kuat dan stabil. Dengan mengetahui atom-atom yang terlibat dalam pembentukan ikatan, peneliti dapat mengevaluasi kontribusi masing-masing bagian dari molekul ligan terhadap afinitas keseluruhan terhadap reseptor. Informasi ini sangat penting dalam pengembangan dan

optimasi senyawa kandidat obat.

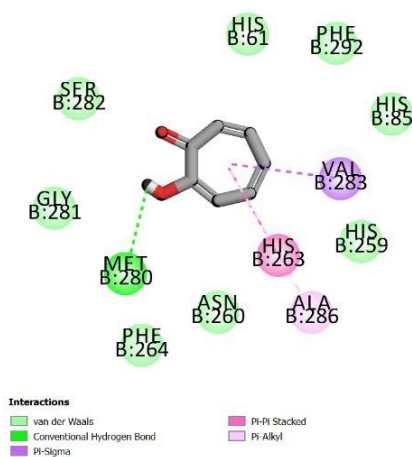
Selain itu, untuk memperkuat pemahaman terhadap hasil visualisasi dua dimensi, dilakukan juga visualisasi tiga dimensi menggunakan perangkat lunak PyMOL. Visualisasi dalam bentuk 3D memungkinkan peneliti untuk melihat susunan spasial dari ligan yang tertambat di dalam kantong aktif reseptor. Dalam tampilan tiga dimensi ini, ikatan-ikatan yang terbentuk antara ligan dan reseptor bisa diamati dari berbagai sudut pandang, sehingga dapat diketahui dengan lebih detail bagaimana ligan berikatan dan menempati ruang aktif reseptor. Hal ini menjadi penting karena struktur tiga dimensi dari protein mempengaruhi fungsi biologisnya secara langsung.

Visualisasi 3D juga memungkinkan untuk menilai apakah posisi ligan dalam reseptor cukup optimal dan apakah orientasi ligan mendukung pembentukan interaksi yang kuat. Melalui tampilan ini, posisi ligan dapat dibandingkan terhadap ligan alami atau ligan kontrol, guna mengetahui apakah senyawa uji memiliki potensi yang sebanding atau bahkan lebih baik. Dengan melihat lokasi spesifik di mana ligan berinteraksi, serta bentuk dan ukuran kantong aktif reseptor, dapat dilakukan prediksi mengenai kestabilan kompleks yang terbentuk serta kemungkinan keberhasilan senyawa tersebut dalam konteks biologis.

Dengan menggabungkan hasil dari kedua visualisasi, baik dua dimensi maupun tiga dimensi, peneliti memperoleh pemahaman yang lebih menyeluruh mengenai pola interaksi ligan dengan reseptor. Informasi ini tidak hanya mendukung hasil kuantitatif dari energi afinitas dan konstanta inhibisi, tetapi juga memberikan dasar visual dan spasial untuk proses desain obat secara rasional. Kombinasi antara analisis grafis dan numerik ini merupakan pendekatan yang penting dalam studi *in silico*, terutama dalam tahap awal penyaringan senyawa kandidat yang berpotensi sebagai inhibitor enzim.



Gambar 5.2. Interaksi antara Asam Kojat (*Kojic Acid*) dengan Enzim Tirosinase



Gambar 5.3. Interaksi antara Tropolone dengan Enzim Tirosinase

Asam kojat, yang juga dikenal dengan nama asam kojic, berinteraksi dengan reseptor melalui pembentukan dua ikatan hidrogen yang melibatkan residu asam amino MET B:280 dan ASN B:260. Selain itu, asam kojat juga berinteraksi secara hidrofobik dengan residu asam amino ALA B:286. Di sisi lain, tropolon, yang merupakan ligan alami, membentuk ikatan hidrogen dengan reseptor yang melibatkan residu asam amino MET B:280. Interaksi hidrofobik tropolon dengan reseptor juga melibatkan residu asam amino yang sama, yakni ALA B:286. Untuk mendapatkan pemahaman yang lebih mendalam mengenai interaksi molekuler yang terbentuk antara berbagai senyawa uji dan enzim tirosinase, analisis lebih lanjut dilakukan. Dalam analisis ini, diperiksa jumlah interaksi yang terjadi serta residu asam amino yang terlibat dalam setiap interaksi molekuler dengan senyawa uji. Hasil analisis ini dapat dilihat lebih rinci pada Tabel 5.4.

Tabel 5.4 Interaksi Residu Asam Amino

No	Senyawa	Ikatan Hidrogen Konvensional	Ikatan Hidrogen Karbon	Jumlah
1	OTR (Tropolone)	MET B:280	-	1
2	<i>Kojic Acid</i> (obat)	ASN B:260, MET B:280	-	2
3	<i>Urolithin B 3-O-glucuronide</i>	ASN B:260	-	1
4	<i>4-(tert-butyl)-N'-[(2,3-dihydro-1-benzofuran-5-ylcarbonyl)oxy]benzenecarboximid amide</i>	ASN B:260, GLU B:256	HIS B:296	3
5	<i>2-Hydroxy-3-{[3-(4-hydroxyphenyl)-4-oxo-4H-chromen-7-yl]oxy}succinic acid</i>	ASN B:260	-	1
6	<i>(5S)-3-Acetyl-1,5-dihydro-4-hydroxy-5-[[4-(3-methyl-2-buten-1-yl)-1H-indol-3-yl]methyl]-2H-pyrrol-2-one</i>	ASN B:260	HIS B:85	2
7	<i>Cartazolate</i>	-	ASN B:260, HIS B:259, MET B:280	3
8	<i>3-(2-naphthyl)-5-(trifluoromethyl)-1H-pyrazole</i>	ASN B:260	-	1
9	<i>5-[4-(4-methoxyphenoxy)phenyl]-1H-pyrazole</i>	ARG B:268	-	1
10	<i>MHPG</i>	VAL B:283	ASN B:260, HIS B:259	3
11	<i>Propapyriogenin A2</i>	HIS B:85	PRO B:284	2
12	<i>D-(-)-Mannitol</i>	-	HIS B:61, HIS B:259, VAL B:283	3
13	<i>D-(-)-Quinic acid</i>	ASN B:260	HIS B:61, VAL B:283	3
14	<i>Sorbitan, monododecanoate</i>	ASN B:81, CYS B:83, HIS B:85	-	3
15	<i>1-(Carboxymethyl)cyclohexanecarboxylic acid</i>	VAL B:283	-	1

16	(±)12(13)-DiHOME	CYS B:83, HIS B:85	-	2
17	(15Z)-9,12,13-Trihydroxy-15-octadecenoic acid	ASN B:81, GLU B:256, HIS B:85, HIS B:244	-	4
18	Azelaic acid	ASN B:81, ASN B:260, HIS B:85	-	3

Hasil tersebut menyatakan bahwa semua senyawa uji dapat berinteraksi dengan bagian sisi aktif enzim tirosinase dengan jumlah interaksi berkisar antara satu sampai empat dan dalam bentuk ikatan hidrogen. Semakin banyak ikatan hidrogen yang terbentuk maka semakin kuat interaksi yang terjadi antara senyawa uji dengan ligan.³¹ Pada tabel hasil interaksi residu asam amino juga menyatakan bahwa jumlah ikatan hidrogen yang terbentuk pada interaksi antara beberapa senyawa aktif ekstrak kulit kayu bangkal (ligan uji) dengan enzim tirosinase lebih banyak dibandingkan antara *tropolone* (ligan alami) dengan enzim dan ada juga yang jumlah ikatan hidrogennya sama dengan ligan alami pada enzim tirosinase.

Keterbatasan penelitian ini terletak pada keterbatasan metode komputasi yang digunakan, terutama dalam memprediksi interaksi ligan dengan target protein secara akurat. Hal ini dapat disebabkan oleh keterbatasan fleksibilitas protein dan ligan, serta asumsi lingkungan yang ideal selama simulasi docking. Selain itu, penggunaan aplikasi *molecular docking* yang gratis memiliki keterbatasan dalam hal kecepatan pemrosesan, algoritma pencarian, serta akurasi energi pengikatan.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis *in silico* dengan metode *molecular docking* antara senyawa aktif ekstrak kulit kayu bangkal (*Nauclea subdita*) dengan enzim tirosinase, diperoleh bahwa beberapa senyawa menunjukkan potensi besar dalam menghambat kerja enzim tersebut. Beberapa ligan uji bahkan memiliki nilai energi ikatan yang lebih rendah (lebih negatif) dibandingkan dengan ligan alami maupun ligan pembanding kojic acid. Senyawa yang menunjukkan potensi paling tinggi antara lain Urolithin B 3-O-glucuronide dengan energi ikatan sebesar -8,81 kcal/mol, diikuti oleh 4-(*tert-butyl*)-*N'*[(2,3-dihydro-1-benzofuran-5-ylcarbonyl)oxy]benzenecarboximidamide sebesar -8,28 kcal/mol, serta 2-Hydroxy-3-[[3-(4-hydroxyphenyl)-4-oxo-4H-chromen-7-yl]oxy]succinic acid sebesar -7,21 kcal/mol. Selain itu, beberapa senyawa lain seperti (5S)-3-Acetyl-1,5-dihydro-4-hydroxy-5-[[4-(3-methyl-2-buten-1-yl)-1H-indol-3-yl]methyl]-2H-pyrrol-2-one, Cartazolate, 3-(2-naphthyl)-5-(trifluoromethyl)-1H-pyrazole, dan senyawa lainnya juga menunjukkan afinitas yang baik dengan nilai *binding affinity* berkisar antara -6,96 hingga -5,10 kcal/mol.

Interaksi molekuler yang terjadi antara senyawa aktif tersebut dengan sisi aktif enzim tirosinase didominasi oleh pembentukan ikatan hidrogen. Semakin banyak jumlah ikatan hidrogen yang terbentuk antara ligan dan residu asam amino pada sisi aktif enzim, maka semakin kuat pula interaksi yang terjadi. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa aktif yang berhasil dianalisis memiliki kemampuan yang baik dalam berikatan dengan enzim target, yang berpotensi menghambat aktivitasnya secara efektif.

Dengan demikian, hasil penelitian ini menyimpulkan bahwa senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak kulit kayu bangkal (*Nauclea subdita*) memiliki potensi yang menjanjikan sebagai agen antihiperpigmentasi. Oleh karena itu, ekstrak kulit kayu bangkal dapat dijadikan sebagai salah satu alternatif bahan aktif dalam pengembangan produk pupur dingin khas Kalimantan untuk keperluan kosmetik atau perawatan kulit.

REFERENSI

- Allgisna KN, Hindun S, Rantika N. Review: Perbandingan beberapa ekstrak kulit buah sebagai anti-hiperpigmentasi. *Jurnal Sains dan Kesehatan*. 2021;3(2):335-342.
- Amanda, Afni N, Darwis M, Sapar, Samsinar. Bedak dingin ekstrak temulawak. *Jurnal Pengabdian kepada Masyarakat Nusantara*. 2023;4(2):1035-1041.
- Az Zahra S, Mari OA. Pengembangan e-modul pembuatan bedak dingin dengan bahan dasar beras dan ekstrak singkong. *Jurnal Tata Rias*. 2023;12(2):91-101.
- Aziz A, Andrianto D, Safithri M. Molecular docking of bioactive compounds from wungu leaves (*Graptophyllum pictum* (L) Griff) as tyrosinase inhibitors. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology Journal Homepage*. 2022;2(2):96-107.
- Aziz A, Andrianto D, Safithri M. Penambatan molekuler senyawa bioaktif daun wungu (*Graptophyllum Pictum* (L) Griff) sebagai inhibitor tirosinase. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. 2022;9(2):94.
- Bardi S, Magdalena BA, Indriyanti W, Maelaningsih FS. Formulasi krim antihiperpigmentasi ekstrak kulit buah delima (*Punica granatum* L.). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. 2016;3(1):17-25.
- Citrariana S, Febrianto Y, Anogra Riani D, et al. Quality testing and phytochemical analysis of simplicia powder of bangkal stem (*Nauclea subdita*) and lime extract as traditional scrubbing ingredients. *Journal of Chemistry and Education*. 2023;2(1):34-38.
- Fadilah ME, Salsabila S, Suci LE, et al. Pengetahuan mengenai sunscreen dan bahaya paparan sinar matahari serta perilaku mahasiswa teknik sipil terhadap penggunaan sunscreen. *Jurnal Farmasi Komunitas*. 2020;7(2):63- 68.
- Fadillah H. Pupur dingin sebagai perawatan wajah khas masyarakat Banjar. *Center for Open Science*. 2021;2(1):1-7.
- Febry MA, Puspitasari D, Supriatin ES, et al. Docking molekuler senyawa metabolit sekunder *Lantana camara* sebagai antiinflamasi terhadap enzim cox-1. *Edisi Agustus*. 2018;4(2):79.
- Fikri AN. Bioteknologi dan penerapannya penelitian dan pembelajaran sains. 1st ed. (Nasrudin Moh, ed.). PT. Nasya Expanding Management (Penerbit NEM); 2022.
- Hardjono S. Sintesis dan uji aktivitas antikanker senyawa 1-(2- klorobenzoiloksi)urea dan 1-(4-klorobenzoiloksi)urea. *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*. 2013;2(1):16-20.
- Hilda FC, Sasongko HSD, Safithri M. Identifikasi senyawa pada batang krokot (*Portulaca oleracea* L.) dan potensinya sebagai aktivator superoksida dismutase in silico. *Pharmamedica Journal*. 2023;8(1):85-94.
- Khaerunnisa S, Suhartati, Awaluddin R. Penelitian in silico untuk pemula. 1st ed. Airlangga University Press; 2023.
- Kim S, Thiessen PA, Bolton EE, et al. PubChem substance and compound databases. *Nucleic Acids Res*. 2016;44(D1):D1202-D1213.
- Kusumanti DP, Sayuti NA, As I. Aktivitas tabir surya formula bedak dingin Jawa. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. 2017;1(1):1-7.
- Listianto RM, Rahmi N, Khairiah N, Salim R, Rufida R, Tri CB. Standardisasi ekstrak kulit kayu bangkal (*Nauclea subdita*) sebagai bahan baku sediaan kosmetika. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*. 2021;39(1):55-64.
- Luh AKAN, Putu LLN. Potensi isokuersitrin sebagai agen antihiperpigmentasi secara in silico dengan metode molecular docking. In: *Workshop Dan Seminar Nasional Farmasi 2022*. Vol 1. ; 2022:171-181.
- Makatita FA, Wardhani Rih, Nuraini. Riset in silico dalam pengembangan sains di bidang pendidikan, studi kasus: Analisis potensi cendana sebagai agen anti-aging bidang. *Jurnal Abdi*. 2020;2(1):59-67.
- Meily A, Andika, Purwanto A. Studi penambatan molekul senyawa flavonoid daun tabat

- barito (*Ficus deltoidea* Jack) dalam menghambat enzim tirosinase. *Medical Sains : Jurnal Ilmiah Kefarmasian*. 2021;6(1):25-34.
- Moradi M, Golmohammadi R, Najafi A, Moosazadeh Moghaddam M, Fasihi-Ramandi M, Mirnejad R. A contemporary review on the important role of in silico approaches for managing different aspects of COVID-19 crisis. *Inform Med Unlocked*. 2022;28:100862.
- Murdiyanti R, Soendjoto MA, Zaini M. Kajian etnobotani famili *rubiceae* di kebun raya banua Banjarbaru, Kalimantan Selatan, Indonesia. *Agro Bali : Agricultural Journal*. 2022;5(2):274-288.
- Nautiyal A, Wairkar S. Management of hyperpigmentation: Current treatments and emerging therapies. *Pigment Cell Melanoma Res*. 2021;34(6):1000-1014.
- Noena RAN, Base NH. Formulasi dan karakteristik bedak dingin kombinasi beberapa pati. *Jurnal Kesehatan Yamas Makassar*. 2022;6(2):57-64.
- Noori HR, Spanagel R. In silico pharmacology: drug design and discovery's gate to the future. *In Silico Pharmacol*. 2013;1(1).
- Priani SE, Fakih TM. Identifikasi aktivitas inhibitor enzim tirosinase senyawa turunan flavonoid pada kulit buah cokelat (*Theobroma cacao* L) secara in silico. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*. 2021;17(2):168.
- Puspita PJ, Liliyani NPP, Ambarsari L. In silico analysis of active compounds of avocado fruit (*Persea americana* Mill.) as tyrosinase enzyme inhibitors. *Current Biochemistry*. 2022;9(2):73-87.
- Puspita PJ, Liliyani NPP, Ambarsari L. Potential of active compounds in leaves, seeds, and peel of avocado fruit (*Persea americana* Mill.) as in silico tyrosinase enzyme inhibitors. *Current Biochemistry*. 2022;9(2):73-87.
- Rahmi N, Salim R, Miyono M, Rizki MI. Pengaruh jenis pelarut dan metode ekstraksi terhadap aktivitas antibakteri dan penghambatan radikal bebas ekstrak kulit kayu bangkal (*Nauclea subdita*). *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*. 2021;39(1):13-26.
- Rodríguez De Luna SL, Ramírez-Garza RE, Serna Saldivar SO. Environmentally friendly methods for flavonoid extraction from plant material: Impact of their operating conditions on yield and antioxidant properties. *Scientific World Journal*. 2020;2020.
- Trinovita E, Fatmaria, Frethernety A, Alexandra FD, Ysrafil. Pemberdayaan masyarakat dalam upaya aplikatif bahan alam sebagai kosmetika tradisional di Kelurahan Panarung, Palangka Raya. *Jurnal Pengabdian ILUNG (Inovasi Lahan Basah Unggul)*. 2023;2(4):723-728.