



## Potensi Madu Kelulut (*Heterotrigona Itama*) Sebagai Inhibitor IL6 Dengan pendekatan *In Silico*

Samsul Hadi\*<sup>1</sup>, Nazwa Rahmadina<sup>3</sup>, Rizka Aulia Ramadani<sup>4</sup>

<sup>1,2,3</sup>Prodi Farmasi FMIPA Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru, Kalimantan Selatan  
e-mail: [samsul.hadi@ulm.ac.id](mailto:samsul.hadi@ulm.ac.id), [nazwa051103@gmail.com](mailto:nazwa051103@gmail.com), [rizkauliar25@gmail.com](mailto:rizkauliar25@gmail.com)

### Abstrak

Inflamasi merupakan kondisi peradangan yang disertai rasa sakit dan demam. Pada umumnya obat antiinflamasi bekerja dengan inhibitor enzim siklooksigenase dan phospholipase A2 yang berperan dalam mensintesis mediator inflamasi seperti prostaglandin dan tromboksan. Berbagai penelitian dikembangkan untuk mencari agen terapi yang lebih efektif dan memiliki resiko yang lebih rendah baik gejala peradangan akut ataupun konsekuensi jangka panjang dari penyakit radang kronis. Salah satu pendekatan yang dilakukan adalah mengembangkan inhibitor IL6. Metode yang dilakukan adalah screening senyawa aktif menggunakan *in silico*. Software docking yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah PLANTS dan visualisasi interaksi menggunakan discovery studio, bahan yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah senyawa yang terkandung dalam madu kelulut (*Heterotrigona itama*) dan protein IL6 dengan kode 5FUC. Hasil dari penelitian ini adalah skor docking bernilai negative dibawah - 40, sehingga reaksi yang terjadi antara ligand dan protein akan berjalan spontan yaitu Ferulic acid: -45.783; p-Coumaric acid: -51.803; trans-Cinnamic acid: -75.999; Salicylic acid: -60.056. Kesimpulan dalam penelitian ini didapatkan senyawa dengan nilai skor terendah yaitu trans-Cinnamic acid.

**Kata kunci:** IL6, docking; madu kelulut

### Abstract

Inflammation is an inflammatory condition accompanied by pain and fever. In general, anti-inflammatory drugs work by inhibiting the enzymes cyclooxygenase and phospholipase A2 which play a role in synthesizing inflammatory mediators such as prostaglandins and thromboxane. Various studies have been developed to look for therapeutic agents that are more effective and have a lower risk of both acute inflammatory symptoms and long-term consequences of chronic inflammatory diseases. One approach is to develop IL6 inhibitors. The method used is screening of active compounds using *in silico*. The docking software used in this research is PLANTS and visualization of interactions using discovery studio. The materials used in this research are compounds contained in kelulut honey (*Heterotrigona itama*) and IL6 protein with the code 5FUC. The results of this research are that the docking score is negative below - 40, so that the reaction that occurs between the ligand and protein will run spontaneously, namely Ferulic acid: -45,783; p-Coumaric acid: -51,803; trans-Cinnamic acid:

-75,999; Salicylic acid: -60,056. The conclusion in this study was that the compound with the lowest score was *trans*-Cinnamic acid.

**Keywords:** IL6, docking; kelulut honey

---

## 1. Pendahuluan

Inflamasi merupakan kondisi peradangan yang terkadang disertai rasa sakit dan demam. Salah satu obat yang terkenal dalam pioner pengobatan adalah aspirin. Aspirin menghambat enzim siklooksigenase yang berperan dalam mensintesis mediator inflamasi yang yaitu prostaglandin dan tromboksan. Kemampuan untuk memblokir produksi prostaglandin dan tromboksan menyebabkan aspirin menjadi agen terapeutik yang paling banyak digunakan di dunia [1]. Selain aspirin adalah obat antiinflamasi nonsteroid, yang menargetkan siklooksigenase 2 khususnya sintesis prostaglandin, terutama prostaglandin 2 [2]. Bentuk sintesis kortisol alami (disebut glukokortikoid) juga banyak digunakan untuk mengobati penyakit inflamasi, dan terlepas dari efek sampingnya, glukokortikoid tetap menjadi andalan untuk mengurangi peradangan. Namun, masih menjadi tantangan bagi peneliti untuk mengembangkan agen yang lebih efektif dan rendah resikonya yang berguna untuk mengobati tanda dan gejala peradangan akut serta konsekuensi jangka panjang dari penyakit radang kronis [3].

Inhibitor spesifik siklooksigenase 2 telah memberikan kemajuan besar dalam pengobatan nyeri, terutama pada pasien dengan osteoarthritis atau rheumatoid arthritis. Salah satu pengembangan inhibitor siklooksigenase -2 telah secara signifikan mengurangi efek samping gastrointestinal dibandingkan dengan inhibitor siklooksigenase -1. Namun, penggunaan kronis beberapa inhibitor spesifik siklooksigenase -2 telah dikaitkan dengan peningkatan kejadian kardiovaskular serta serebrovaskular terutama pada pasien dengan peningkatan risiko trombosis [4]. Peningkatan risiko ini mungkin karena pengurangan sintesis prostasiklin, yang merupakan penghambat alami aktivasi trombosit. Selain manfaatnya yang luas pada radang sendi, inhibitor spesifik siklooksigenase -2 digunakan untuk mengurangi perkembangan kanker usus besar pada pasien berisiko tinggi karena sel adenokarsinoma di usus besar mengekspresikan siklooksigenase -2 secara berlebihan [5].

Mediator inflamasi prostaglandin 2 menurunkan ambang nyeri, sehingga prostaglandin 2 menjadi target yang menarik untuk diteliti. Tujuan utama dari inhibitor oral prostaglandin 2 adalah untuk mengurangi rasa sakit. Ada dua jalur untuk mensintesis molekul inflamasi prostaglandin 2 yaitu jalur siklooksigenase -1 konstitutif dan jalur siklooksigenase -2 yang dapat diinduksi. Sedangkan siklooksigenase -1 menyumbang tingkat rendah prostaglandin 2 dan mengatur mekanisme homeostatis dalam kesehatan, siklooksigenase -2 menginduksi setidaknya dua kali lipat lebih banyak prostaglandin 2 dibandingkan dengan siklooksigenase -1 dan terutama terkait dengan penyakit inflamasi. Sintesis siklooksigenase -2 rendah pada individu sehat tetapi diregulasi oleh sitokin proinflamasi seperti IL-1 dan TNF- $\alpha$  sebagai respons terhadap infeksi atau penyakit inflamasi [6]. Ada beberapa langkah dalam kaskade inflamasi awal yang dipicu oleh sitokin, termasuk perekrutan sel myeloid (monosit dan neutrofil) ke dalam jaringan yang terkena. Produk inflamasi dari oksidasi asam arakidonat ( $\omega$ -6) termasuk prostaglandin inflamasi<sup>2</sup> dan lipoksin (LTB<sub>4</sub>) dilepaskan dari sel myeloid yang menginfiltrasi. Sebaliknya, produk oksidasi asam eicosapentanoic ( $\omega$ -3), prostaglandin 3, dan LTB<sub>5</sub>, memiliki aktivitas anti inflamasi [6].

Peradangan adalah proses dinamis dengan sitokin proinflamasi seperti tumor necrosis factor TNF $\alpha$ , interleukin (IL)-6, dan vascular endothelial growth factor (VEGF) memainkan peran sentral. Penelitian mengenai berbagai macam inhibitor yang menargetkan sitokin, sehingga antisitokin saat ini telah menemukan tempat dalam pengobatan penyakit autoimun, seperti rheumatoid arthritis, penyakit radang usus, psoriasis, multiple sclerosis, dan lain-lain. Contohnya adalah eplizumab, daclizumab, rituximab, ofatumumab, epratuzumab, belimumab. Dan obat yang spesifik menurunkan aktivitas TNF $\alpha$  adalah infliximab, adalimumab, golimumab, sedangkan obat yang spesifik menurunkan IL6 adalah Siltuximab

bekerja dengan mendownregulasi VEHV, CCL2 dan CXCL12. Penggunaan antisitokin ini telah mengubah kehidupan jutaan pasien dengan penyakit ini. Salah satu kelemahan terapi antisitokin adalah penurunan pertahanan kekebalan tubuh pejamu terhadap infeksi dan kemungkinan kanker. Namun demikian, manfaat terapi antisitokin lebih besar daripada risikonya, dan risikonya dapat dikurangi. Dibandingkan dengan konsekuensi pengobatan glukokortikoid jangka panjang untuk membendung peradangan, terapi antisitokin merupakan perbaikan besar.

Kejadian toksisitas organ jarang terjadi, hal ini karena terapi antisitokin beroperasi di ekstraseluler daripada kompartemen intraseluler. Akan tetapi biaya obat-obatan antisitokin relatif mahal karena obat golongan ini umumnya adalah antibodi baik poliklonal atau monoclonal. Sehingga diperlukan penelitian antiinflamasi jalur antisitokin khususnya terhadap IL6. Sehingga penggunaan madu dalam mengatasi peningkatan IL6 menjadi target dalam penelitian *insilico*.

## 2. Metode Penelitian

### Bahan dan Alat

Bahan yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah senyawa yang terkandung dalam madu kelulut (*H.itama*), kristal protein IL6 dengan kode 5FUC dari RCSB. Perangkat keras yang dipergunakan adalah Quad Core Processor N3700, memory 2GB DDR3. Software yang dipergunakan adalah PLANTS, Marvin Bean [7], Yasara [8] dan Discovery Studio [9].

### Cara kerja

Docking terhadap IL6 dimulai dengan preparasi protein dan preparasi ligand yang terkandung dalam madu kelulut (*H.itama*). Kristal protein diperoleh dari webserver RCSB dengan kode 5FUC. Struktur ligand diperoleh dari Pubchem. Setelah preparasi selesai selanjutnya membuat gridbox untuk docking. Dalam penelitian ini menggunakan koordinat yaitu X:43.1399, Y:7.3499, Z:-22.3299

### Analisis data

Data yang diperoleh dari docking menggunakan PLANTS adalah skor docking. Nilai skor docking sebagai gambaran dari energi bebas ikatan antara ligand dengan interleukin 6. Analisis yang kedua adalah melihat jarak ikatan antara ligand dan asam amino dari residu menggunakan Discovery Studio.

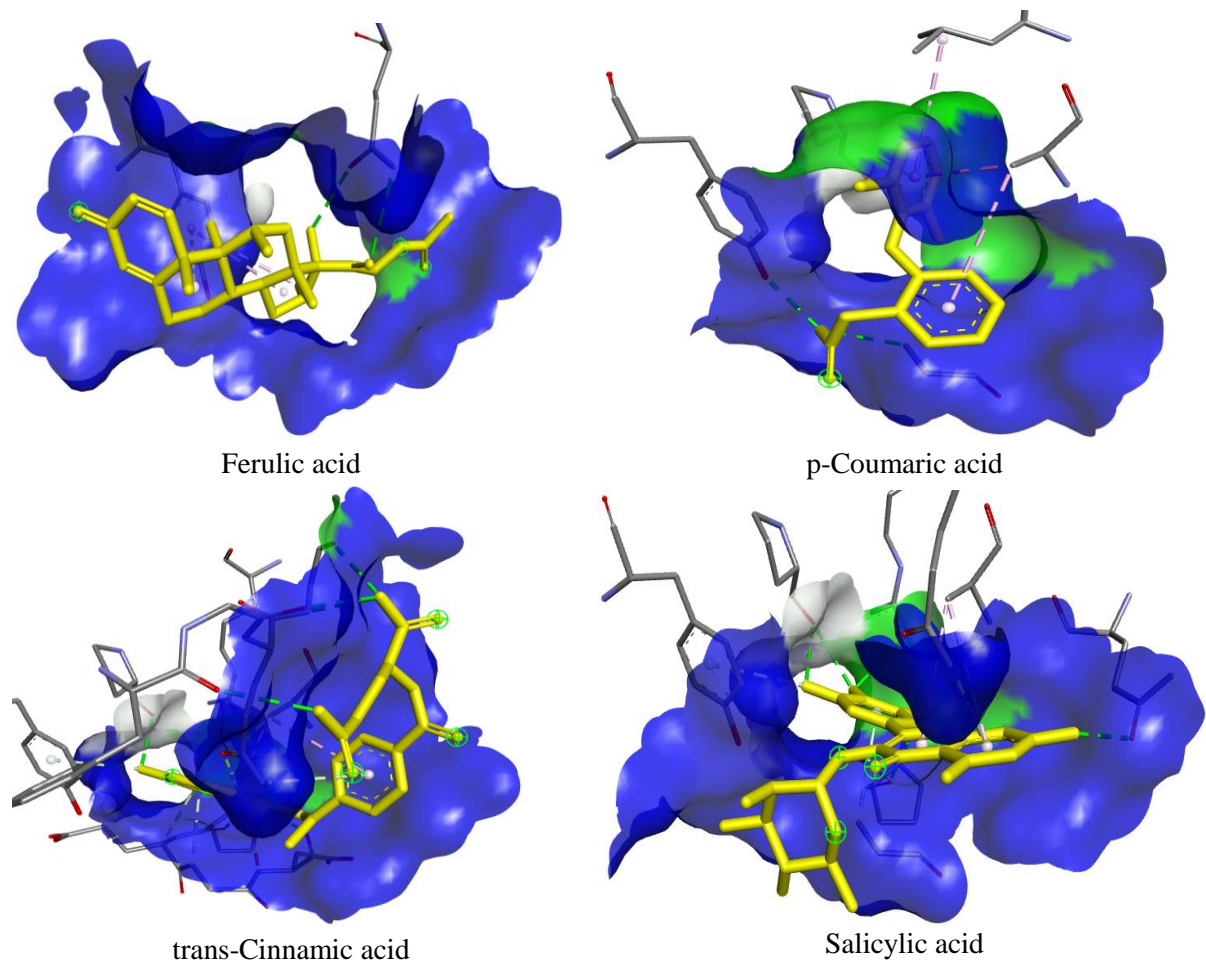
## 3. Hasil dan Pembahasan

Docking terhadap IL6 dimulai dengan preparasi protein. Preparasi ini dimulai dengan penghilangan molekul air dan dua ion sulfat menggunakan Yasara [8]. Sekuen protein yang digunakan dalam penelitian ini adalah rantai A, karena rantai A ini berikatan dengan ligand native. Docking PLANT menggunakan Ann Algorithm. Setelah proses docking selesai tahap selanjutnya adalah melihat konformasi dan energi terendah yang akan digunakan sebagai validasi model. Berdasarkan uji docking terhadap sampel, diperoleh hasil beberapa ligand mempunyai persamaan ketika berinteraksi dengan protein IL6 $\alpha$ . Interaksi antara ligand dengan protein IL6 dapat dilihat pada Tabel 1. Residu-residu ini berperan dalam binding site ligand terhadap protein adalah GLN267; TYR264; ARG124 [10].

**Tabel 1.** Nilai skor docking tiap senyawa dan residu yang terlibat dalam ikatan

Senyawa	Skor docking	Ikatan	
		Hidrogen	Hidrofob
Ferulic acid	-45.783	GLN267	TYR264
p-Coumaric acid	-51.803	GLY173; TYR264	ALA182; PRO152; LEU197
trans-Cinnamic acid	-75.999	GLY281; GLY282; PHE259; PRO166; ASP135; PRO152; GLU163; GLN267; GLY173; TYR264	ALA182; ARG124

Salicylic acid	-60.056	ARG124; GLN190; VAL161; PRO166; GLY173; GLN267; TYR264	ALA182
----------------	---------	---	--------



**Gambar 1.** Interaksi 3 dimensi dari empat ligan yang memiliki energi terendah

Berdasarkan struktur 3 dimensi pada **Gambar 1.** menginformasikan ikatan hidrogen antara ligan dan protein baik sebagai donor hidrogen atau aseptor hidrogen.

Ikatan hidrogen ferulic acid terjadi pada residu GLN267 dengan jarak 2,155 Å dan ikatan hidrofob dengan residu TYR264 5,155 Å. p-Coumaric acid membentuk ikatan hidrogen dengan GLY173 pada 2,587 Å dan TYR264 pada 3,038 Å, disamping itu p-Coumaric acid membuat ikatan hidrofob dengan ALA182; PRO152; LEU197. trans-Cinnamic acid membentuk ikatan berbagai macam ikatan hidrogen yaitu GLY281; GLY282; PHE259; PRO166; ASP135; PRO152; GLU163; GLN267; GLY173; TYR264, sedangkan ikatan hidrofob terjadi pada ALA182 pada 5,038 Å dan ARG124 pada 4,587 Å. Salicylic acid terjadi ikatan hidrogen pada ARG124; GLN190; VAL161; PRO166; GLY173; GLN267; TYR264, disamping itu terjadi ikatan hidrofob dengan ALA182 pada 4,944 Å. Sitokin yang berperan dalam menurunkan

ambang nyeri dan merusak jaringan salah satunya adanya interleukin-6. Terapi penggunaan inhibitor IL-6 dapat mengurangi tingkat keparahan, meningkatkan pemulihan penglihatan, pendengaran dan memperbaiki organ yang dipengaruhi oleh mediasi perdaangan. Sehingga penggunaan inhibitor IL-6 dapat membantu kondisi gagal ginjal setelah infrak, obat yang sudah terbukti sebagai inhibitor IL-1 adalah Siltuximab (dalam bentuk antibody) bekerja dengan mendownregulasi VEHV, CCL2 dan CXCL12 [11].

Sebagian besar penyakit manusia disebabkan oleh peradangan kronis yang mengakibatkan hilangnya fungsi sendi, pembuluh darah, atau seluruh organ. Di beberapa organ, seperti jantung dan otak, peradangan akut bisa berakibat fatal. Interleukin-6 (IL-6) adalah sitokin utama peradangan lokal dan sistemik, dan ketersediaan agen menargetkan spesifik IL-6 telah mengungkapkan peran patologis peradangan yang dimediasi IL-6 [12]. Setelah teraktifasi akan memicu mediator inflamasi, kemokin dan berbagai sitokin lainnya. Gejala yang timbul ketika IL-6 berikatan dengan reseptor adalah timbul gejala demam, kehilangan nafsu makan, nyeri bagian sendi dan otot, gangguan pencernaan dan tidur, kelelahan dan hipotensi [13]. Sehingga penggunaan inhibitor IL6 diperlukan untuk mengatasi gangguan ini. Penggunaan inhibitor IL6 pada kasus atherosclerosis. Peran IL-6 berkorelasi erat dengan transduksi sinyalnya. Dengan demikian, penghambatan transduksi sinyalnya merupakan cara untuk meringankan aterosklerosis. Ada beberapa molekul yang dapat menghambat transduksi sinyal IL6 dapat mengikat secara kompetitif IL-6R1 ketika akan berikatan dengan IL-6 [14]. Antagonis dapat mengikat IL-6R1 dengan kuat tetapi tidak dapat merekrut IL-6Racp (IL-6R3) untuk membentuk dimer TIR. Dengan demikian tidak dapat memediasi pensinyalan intraseluler yang sesuai. IL-6R2 adalah reseptor yang mengikat IL-6 $\alpha$  atau IL-6 $\beta$  dan dapat merekrut IL-6R3, yang secara struktural mirip dengan IL-6R1 tetapi tidak memiliki domain intraseluler dan karena itu tidak dapat membentuk dimer TIR[15].

#### 4. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian *in silico* yang dilakukan, diperoleh senyawa dengan nilai skor docking terendah yaitu trans-Cinnamic acid

#### Daftar Pustaka

- [1] E. Ricciotti and G. A. FitzGerald, "Prostaglandins and inflammation.," *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 31, no. 5, pp. 986–1000, May 2011, doi: 10.1161/ATVBAHA.110.207449.
- [2] C. S. Williams, M. Mann, and R. N. DuBois, "The role of cyclooxygenases in inflammation, cancer, and development," *Oncogene*, vol. 18, no. 55, pp. 7908–7916, 1999.
- [3] M. Rieke-Hoch *et al.*, "Impaired immune response mediated by prostaglandin E2 promotes severe COVID-19 disease," *PLoS One*, vol. 16, no. 8, p. e0255335, Aug. 2021, [Online]. Available: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0255335>
- [4] N. Hashemi Goradel, M. Najafi, E. Salehi, B. Farhood, and K. Mortezaee, "Cyclooxygenase-2 in cancer: A review.," *J. Cell. Physiol.*, vol. 234, no. 5, pp. 5683–5699, May 2019, doi: 10.1002/jcp.27411.
- [5] B. Liu, L. Qu, and S. Yan, "Cyclooxygenase-2 promotes tumor growth and suppresses tumor immunity," *Cancer Cell Int.*, vol. 15, no. 1, p. 106, 2015, doi: 10.1186/s12935-015-0260-7.
- [6] S. Saperstein, L. Chen, D. Oakes, G. Pryhuber, and J. Finkelstein, "IL-1beta augments TNF-alpha-mediated inflammatory responses from lung epithelial cells.," *J. Interf. cytokine Res. Off. J. Int. Soc. Interf. Cytokine Res.*, vol. 29, no. 5, pp. 273–284, May 2009, doi: 10.1089/jir.2008.0076.
- [7] ChemAxon, "ChemAxon - Software Solutions and Services for Chemistry and Biology.," *MarvinSketch, Version 16.10.31*. 2016. [Online]. Available: <https://chemaxon.com/>
- [8] E. Krieger and G. Vriend, "YASARA View—molecular graphics for all devices—from smartphones to workstations," *Bioinformatics*, vol. 30, no. 20, pp. 2981–2982, Oct. 2014, doi: 10.1093/bioinformatics/btu426.
- [9] D. S. Biovia, "Discovery Studio Visualizer," 2019. <https://discover.3ds.com/discovery->

- studio-visualizer-download#\_ga=2.4935860.685747970.1587999055-a5d1c1c0-3176-11e9-a86f-e302515d21c8
- [10] C. Nichols *et al.*, “Mining the PDB for Tractable Cases Where X-ray Crystallography Combined with Fragment Screens Can Be Used to Systematically Design Protein-Protein Inhibitors: Two Test Cases Illustrated by IL1 $\beta$ -IL1R and p38 $\alpha$ -TAB1 Complexes.” *J. Med. Chem.*, vol. 63, no. 14, pp. 7559–7568, Jul. 2020, doi: 10.1021/acs.jmedchem.0c00403.
- [11] S. Kang, T. Tanaka, and T. Kishimoto, “Therapeutic uses of anti-interleukin-6 receptor antibody.” *Int. Immunol.*, vol. 27, no. 1, pp. 21–29, Jan. 2015, doi: 10.1093/intimm/dxu081.
- [12] Y. Li, J. Zhao, Y. Yin, K. Li, C. Zhang, and Y. Zheng, “The Role of IL-6 in Fibrotic Diseases: Molecular and Cellular Mechanisms.” *Int. J. Biol. Sci.*, vol. 18, no. 14, pp. 5405–5414, 2022, doi: 10.7150/ijbs.75876.
- [13] A. M. K. Rothman *et al.*, “Effects of Interleukin-1 $\beta$  Inhibition on Blood Pressure, Incident Hypertension, and Residual Inflammatory Risk,” *Hypertension*, vol. 75, no. 2, pp. 477–482, Feb. 2020, doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.119.13642.
- [14] Y.-Q. Zhou *et al.*, “Interleukin-6: an emerging regulator of pathological pain,” *J. Neuroinflammation*, vol. 13, no. 1, p. 141, 2016, doi: 10.1186/s12974-016-0607-6.
- [15] T. Tanaka, M. Narazaki, and T. Kishimoto, “IL-6 in inflammation, immunity, and disease.” *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, vol. 6, no. 10, p. a016295, Sep. 2014, doi: 10.1101/cshperspect.a016295.