# STUDI *IN SILICO* SENYAWA AKTIF EKSTRAK KULIT KAYU BANGKAL (*Nauclea subdita*) SEBAGAI ANTIHIPERPIGMENTASI

**Asima Rohana Siagian[1], Dwiana Savitri[2], Mashuri[3], Agung Biworo[4], Rahmiati[5]**

[1]Program Studi Kedokteran Program Sarjana, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin, Indonesia
[2]Departemen Kulit dan Kelamin, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin, Indonesia
[3]Departemen Radiologi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin, Indonesia
[4]Departemen Farmakologi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin, Indonesia
[5]Departemen Mikrobiologi dan Parasitologi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin, Indonesia

Email korespondensi: rohanapepsi@gmail.com

***Abstract: The bark of bangkal tree (Nauclea subdita) is believed to treat and prevent hyperpigmentation by inhibiting tyrosinase enzyme activity.*** *This study aims to evaluate the potential of active compounds from bangkal bark extract in inhibiting tyrosinase in silico, compared to natural and reference ligands. The analysis was conducted using molecular docking, including ligand preparation, tyrosinase optimization, validation, and docking processes. The method was validated with an RMSD value < 2 Å. The results showed that several active compounds effectively inhibited tyrosinase, as indicated by low binding free energy (-ΔG), such as Urolithin B 3-O-glucuronide (-8.81 kcal/mol). All tested compounds interacted with the tyrosinase active site through one to four hydrogen bonds. Thus, active compounds from bangkal bark extract have potential as alternative agents for hyperpigmentation treatment.*

***Keywords:*** *Nauclea subdita, molecular docking, hyperpigmentation*

**Abstrak: Kulit kayu bangkal (*Nauclea subdita*) diyakini dapat mengatasi dan mencegah hiperpigmentasi melalui penghambatan enzim tirosinase.** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi senyawa aktif dari ekstrak kulit kayu bangkal dalam menghambat tirosinase secara in silico, dibandingkan dengan ligan alami dan ligan pembanding. Uji dilakukan melalui penambatan molekuler yang mencakup preparasi ligan, optimasi tirosinase, validasi, dan penambatan. Metode ini dinyatakan valid dengan RMSD < 2 Å. Hasil menunjukkan beberapa senyawa aktif mampu menghambat tirosinase dengan nilai energi bebas (-ΔG) rendah, seperti Urolithin B 3-O-glucuronide (-8,81 kcal/mol). Semua senyawa uji berinteraksi dengan sisi aktif tirosinase melalui satu hingga empat ikatan hidrogen. Dengan demikian, senyawa aktif dari ekstrak kulit kayu bangkal berpotensi sebagai alternatif agen antihiperpigmentasi.

**Kata-Kata kunci:** *Nauclea subdita,* penambatan molekuler, hiperpigmentasi

## PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang intensitas paparan mataharinya tinggi. Hal ini disebabkan karena Indonesia dilalui garis khatulistiwa yang membuat negara Indonesia beriklim tropis. Sinar matahari paling banyak akan mengenai bagian bumi di bagian garis khatulistiwa. Kulit akan mengalami kerusakan karena paparan radiasi sinar ultraviolet (UV) terus menerus.[1] Sinar ultraviolet (UV) yang terkandung di dalam sinar matahari sangat berbahaya bagi kulit karena sinar itu memiliki energi tinggi dan karsinogenik.[2]

Sinar UV memiliki panjang gelombang 100– 400 nm dan terbagi menjadi tiga jenis yaitu: UV A (315–400 nm), UV B (280–315 nm) dan UV C (100–280 nm).[1] Sinar UV B adalah sinar ultraviolet yang paling berbahaya yang memiliki kekuatan 1000 kali lipat dibandingkan sinar UV A dan C. Diperlukan suatu perlindungan untuk meminimalkan dampak buruk dari paparan sinar ultraviolet pada kulit.[2] Paparan sinar matahari yang berlebihan dapat menyebabkan munculnya bercak coklat kehitaman, warna kulit yang tidak merata, dan kulit menjadi kering.[3]

Hiperpigmentasi adalah masalah kulit yang terjadi akibat peningkatan pigmen kulit. Peningkatan sintesis melanin secara lokal atau distribusi melanin yang tidak merata dapat menyebabkan pigmentasi lokal atau bercak.[4] Berbagai faktor yang dapat menyebabkan hiperpigmentasi termasuk perubahan hormonal, peradangan, cedera, jerawat, eksim, obat-obatan tertentu, dan paparan sinar UV. Hiperpigmentasi sering mengganggu penampilan dan mengurangi kepercayaan diri, sehingga banyak orang berusaha untuk mencerahkan warna kulit.[3] Pengembangan produk perawatan kulit berbahan alami untuk pemutih atau pencerah wajah difokuskan pada aktivitas penghambatan enzim tirosinase yang mengurangi produksi melanin. Bahan alami tersebut biasanya berasal dari tanaman dan memiliki keuntungan karena efek samping yang lebih kecil dibandingkan bahan kimia.[4]

Bedak dingin merupakan salah satu produk kecantikan tradisional yang menggunakan bahan utama beras dan diklaim dapat membantu mengatasi kelainan pada kulit wajah.[5] Bedak dingin atau dalam bahasa banjar pupur dingin adalah tabir surya tradisional yang umum digunakan di daerah Indonesia. Pupur tradisional khas Kalimantan Selatan ini, dapat dibuat sendiri dan telah digunakan secara turun temurun.[6,7] Pupur dingin dapat digunakan untuk melindungi kulit wajah dari efek negatif sinar UV. Pupur dingin juga digunakan untuk menyembuhkan jerawat, mencerahkan kulit yang kusam dan mendinginkan serta mengencangkan kulit wajah.[8]

Bangkal (*Nauclea subdita*) adalah jenis tanaman dari genus *Nauclea*, yang termasuk dalam keluarga *Rubiaceae*, dan sering dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional. Bangkal digunakan oleh masyarakat lokal Kalimantan sebagai bahan dasar pembuatan bedak tradisional.[9] Bagian dari tanaman bangkal yang lazimnya digunakan dalam pembuatan pupur dingin adalah kulit kayu.[10] Kulit kayu bangkal mengandung fraksi etil asetat yang berfungsi sebagai tabir surya alami dengan tingkat perlindungan tinggi, mencapai nilai 18,21 dan 24 (proteksi ultra).[9] Selain itu, kulit kayu ini kaya akan flavonoid, yaitu sebesar 44,728 ± 2,525 ekuivalen kuersetin (mg kuersetin/g ekstrak) yang diperoleh melalui ekstraksi menggunakan pelarut etanol.[10] Antioksidan dalam gel ekstrak kulit batang Nauclea subdita tergolong sangat kuat, dengan nilai IC50 sebesar 48,78 µg/ml, dan memiliki kemampuan menghambat enzim tirosinase yang berperan dalam pembentukan melanin, penyebab penggelapan kulit wajah, pada dosis IC50 sebesar 568,58 µg/ml. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kulit kayu bangkal efektif untuk pencegahan penuaan (*antiaging*).[9]

Proses penemuan dan pengembangan produk kesehatan menghadirkan tantangan dan kompleksitas yang signifikan, terutama karena durasinya yang panjang dan banyak

faktor risiko yang dapat mengakibatkan kegagalan. Penelitian dan data dari produsen farmasi menunjukkan bahwa upaya ini sangat mahal, dengan biaya diperkirakan mencapai $880 juta dolar AS dan garis waktu yang dapat diperpanjang hingga 14 tahun. Solusi potensial untuk masalah ini terletak pada memprediksi kemanjuran dan efek samping senyawa aktif melalui metode in silico. Pendekatan ini menggunakan simulasi komputer untuk meniru skenario dunia nyata, yang kemudian diterapkan dalam desain obat, termasuk studi tentang penambatan molekul. Studi semacam itu meneliti bagaimana dua atau lebih struktur molekul dapat berinteraksi dalam ruang tiga dimensi. Penambatan molekuler sering digunakan untuk meramalkan struktur kompleks antarmolekul yang berkembang di antara molekul, terutama berfokus pada interaksi antara ligan dan protein. Oleh karena itu, penting untuk melakukan studi in silico menggunakan teknik penambatan molekuler untuk mendapatkan pemahaman yang lebih jelas tentang potensi senyawa aktif yang berasal dari ekstrak kulit bangkal (*Nauclea subdita*) dalam menghambat enzim tirosinase dan interaksi molekulnya.[11]

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental dengan metode *in silico*. Penelitian ini menggunakan cara analisis *molecular docking* antara senyawa aktif yang terdapat pada kulit kayu bangkal (*Nauclea subdita*) dengan agen hiperpigmentasi (enzim tirosinase).

Penelitian ini dimulai dengan menganalisis senyawa aktif ekstrak kulit kayu bangkal menggunakan *Liquid Chromatography-High Resolution Mass Spectometry* (LC-HRMS) yang dilakukan di Pusat Studi Biofarmakologi Tropika Institut Pertanian Bogor, Bogor, Jawa Barat. Sampel yang diekstraksi diencerkan sesuai dengan pelarut (polar). Pengenceran dilakukan dengan melihat kekentalan sampel (tidak terlalu kental dan tidak terlalu encer) dengan volume akhir 1300 ul.

Sampel di vortex selama satu menit dan kemudian di *spin down* selama 2 menit. Supernatan disaring menggunakan syringe filter 0.22 m dan dimasukkan ke dalam vial. Sampel dalam vial dimasukkan ke dalam Autosampler lalu diinjeksikan ke (Liquid Chromatography High Resolution Mass Spectrometry) LC-HRMS. Analisis dilakukan dengan HPLC (Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000 RSLC Nano dengan microflow meter). Larutannya adalah 0,1% asam format dalam air (A) atau asetonitril (B). Analisa yang digunakan adalah ukuran partikel Hypersil GOLD AQ 50 x 1 mm x 1,9 u dengan debit 40 µL/menit. Waktu pengerjaan 30 menit dengan temperatur 30ºC dalam kolom oven.

Kemudian preparasi dengan mendapatkan ligan dan protein dengan mengunduh struktur 2D dalam format *.sdf dari situs web pubchem.ncbi.nlm.nih.gov. Selanjut-nya, mengubah file-file tersebut menjadi struktur 3D dalam format *.pdb menggunakan perangkat lunak Discovery Studio Visualizer. Setelah ini, gunakan aplikasi AutoDockTools-1.5.6 untuk menambahkan atom hidrogen. Hasil dari proses optimasi ini harus disimpan di *. Format PDBQT. Untuk menilai stabilitas ligan, analisis kelarutan dan penyerapan dalam tubuh sesuai dengan aturan Lipinski dengan mengunjungi halaman http://www.scfbio-iitd.res. in/software/drugdesign/ lipinski.jsp.

Pada proses penelitian, senyawa uji, pembanding, dan ligand native mengalami proses minimisasi energi menggunakan aplikasi Avogadro dengan parameter MMFF94. Sementara itu, reseptor dioptimasi dengan aplikasi Swiss PDB Viewer menggunakan parameter GROMOS96. Metode molecular docking divalidasi melalui proses redocking, yaitu menambatkan kembali ligand native pada protein target menggunakan AutoDock Tools 4.2. Pada tahap ini, pengaturan grid box sangat penting untuk menentukan sisi

aktif reseptor yang dijadikan acuan dalam penambatan senyawa uji. Setelah minimisasi energi, senyawa uji ditambatkan pada reseptor tirosinase menggunakan AutoDock Tools 4.2, menghasilkan pose dan skor sebagai output. Analisis interaksi ikatan hidrogen antara ligand dan reseptor dilakukan secara dua dimensi menggunakan LigPlot+ dan secara tiga dimensi menggunakan PyMOL untuk visualisasi lebih lanjut.

Analisis data dilakukan secara prinsip bioinformatika dengan memperhatikan hasil *docking* antara senyawa ligan (senyawa aktif ekstrak kulit kayu bangkal) dengan enzim tirosinase. Analisis meliputi mengetahui besar *binding affinity* dari interaksi senyawa aktif ekstrak kulit kayu bangkal. Selanjutnya *binding affinity* akan dibandingkan berdasarkan energi ikatan yang paling negatif.

Selain itu, analisis meliputi identifikasi jumlah dan jenis ikatan yang menyusun masing-masing interaksi beserta jenis residu asam amino. Penyajian data dalam bentuk interaksi dua dan tiga dimensi akan menampilkan jumlah interaksi, jenis interaksi, serta residu asam amino antara senyawa aktif pada protein target. Penarikan simpulan didasarkan pada *binding affinity*, jumlah interaksi, jenis interaksi, serta jenis residu asam amino antara senyawa aktif ekstrak kulit kayu bangkal dengan enzim tirosinase.

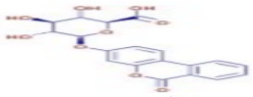
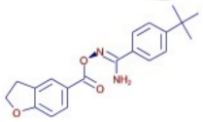
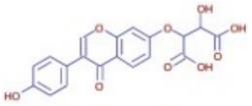
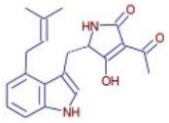
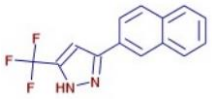
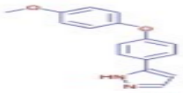
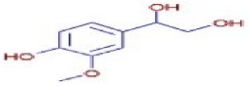
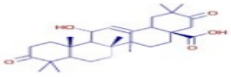
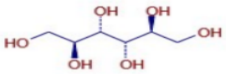
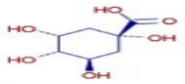
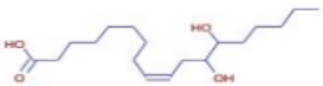
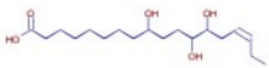
## HASIL DAN PEMBAHASAN

Fenolik dan flavonoid, dua bahan aktif yang kaya akan ekstrak kulit kayu bangkal, mungkin dapat memblokir aktivitas enzim tirosinase, yang akan mengurangi jumlah melanin berlebihan yang terbentuk pada kulit.[12] Simulasi penambatan molekuler ini menggunakan aplikasi *AutoDock Tools* untuk memastikan potensi dan interaksi bahan kimia aktif dalam ekstrak kulit bangkal dalam memblokir enzim tirosinase secara molekuler. Aplikasi docking populer *AutoDock* tersedia di bawah lisensi open source.[11]

Berdasarkan hasil LC-HRMS (*Liquid Chromatography High Resolution Mass Spectrometry*) yang dapat dilihat pada tabel 1, setelah menjalani proses penyaringan dan bioavailabilitas virtual, total 101 ligan dari kulit bangkal diidentifikasi sebagai penghambat tirosinase yang potensial. Situs web PubChem, database kimia publik yang memberikan rincian tentang bahan kimia dan efek biologisnya, memungkinkan pengguna untuk mengunduh semua struktur ligan tiga dimensi.[13] 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 energi ligan dijaga seminimal mungkin untuk menstabilkan asosiasi yang dihasilkannya.[12]

Aturan Lipinski digunakan untuk mengevaluasi karakteristik farmakokinetik obat-obatan, seperti penyerapan, distribusi, metabolisme, dan ekskresi. Aturan ini mencakup nilai bias molar antara 40 dan 130, massa molekul relatif kurang dari 500 Da, donor dan akseptor ikatan hidrogen masing-masing kurang dari lima dan sepuluh, serta log P kurang dari lima.[14] Semua ligan termasuk ligan alami, ligan uji dan ligan pembanding telah dievaluasi dengan aturan Lipinski. Hasil identifikasi berdasarkan aturan Lipinski yang dapat dilihat pada tabel 2 menunjukkan bahwa semua ligan memiliki massa molekul relatif kurang dari 500 Da. Selain itu donor ikatan hidrogen semua ligan kurang dari 5 kecuali *D-(-)-Mannitol* dan *D-(-)-Quinic acid*. Akseptor ikatan hidrogen semua ligan kurang dari 10. Sementara itu Log P untuk semua ligan kurang dari 5. Nilai refraktivitas molar semuanya ada dalam rentang 40-130 kecuali *Tropolone, Kojic Acid, Propapyriogenin A2,* dan *D-(-)-Mannitol*. Ligan yang memenuhi 3-5 aturan Lipinski dapat dijadikan sebagai target pengembangan obat sehingga berdasarkan hasil tersebut semua ligan alami, ligan pembanding, dan ligan uji memenuhi kriteria Lipinski.[15]

Tabel 1. Identifikasi Senyawa Aktif Hasil Ekstraksi Kulit Kayu Bangkal

| No | Senyawa | Formula | Struktur |
|---|---|---|---|
| 1. | *Urolithin B 3-O-glucuronide* | C19 H16 O9 |  |
| 2. | *4-(tert-butyl)-N'-[(2,3-dihydro-1-benzofuran-5-ylcarbonyl)oxy]benzenecarboximidamide* | C20 H22 N2 O3 |  |
| 3. | *2-Hydroxy-3-{[3-(4-hydroxyphenyl)-4-oxo-4H-chromen-7-yl]oxy}succinic acid* | C19 H14 O9 |  |
| 4. | *(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* | C20 H22 N2 O3 |  |
| 5. | *Cartazolate* | C15 H22 N4 O2 | |
| 6. | *3-(2-naphthyl)-5-(trifluoromethyl)-1H-pyrazole* | C14 H9 F3 N2 |  |
| 7. | *5-[4-(4-methoxyphenoxy)phenyl]-1H-pyrazole* | C16 H14 N2 O2 |  |
| 8. | MHPG | C9 H12 O4 |  |
| 9. | *Propapyriogenin A2* | C30 H44 O5 |  |
| 10. | *D-(-)-Mannitol* | C6 H14 O6 |  |
| 11. | *D-(-)-Quinic acid* | C7 H12 O6 |  |
| 12. | *Sorbitan, monododecanoate* | C18 H34 O6 | |
| 13. | *1-(Carboxymethyl)cyclohexanecarboxylic acid* | C9 H14 O4 | |
| 14. | *(±)12(13)-DiHOME* | C18 H34 O4 |  |
| 15. | *(15Z)-9,12,13-Trihydroxy-15-octadecenoic acid* | C18 H34 O5 |  |
| 16. | *Azelaic acid* | C9 H16 O4 | |

Tabel 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 | 0TR (*Tropolone*) | 122.12 | 1 | 2 | 1.41 | 34.74 | Memenuhi |
| 2 | *Kojic Acid* (obat) | 142.11 | 2 | 4 | 1.12 | 33.13 | Memenuhi |
| 3 | *Urolithin B 3-O-glucuronide* | 388.32 | 4 | 9 | 1.90 | 94.75 | Memenuhi |
| 4 | *4-(tert-butyl)-N'-[(2,3-dihydro-1-benzofuran-5-ylcarbonyl)oxy]benzenecarboximidamide* | 338.400 | 2 | 5 | 4.96 | 95.6 | Memenuhi |
| 5 | *2-Hydroxy-3-{[3-(4-hydroxyphenyl)-4-oxo-4H-chromen-7-yl]oxy}succinic acid* | 386.309 | 4 | 9 | 2.34 | 91.2 | Memenuhi |
| 6 | *(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* | 338.40 | 3 | 3 | 2.77 | 101.93 | Memenuhi |
| 7 | *Cartazolate* | 290.361 | 1 | 6 | 4.83 | 81.4 | Memenuhi |
| 8 | *3-(2-naphthyl)-5-(trifluoromethyl)-1H-pyrazole* | 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, monodecanoate* | 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 |

Kristal protein tirosinase, kode PDB ID 2Y9X, adalah reseptor yang digunakan dalam penyelidikan ini. Struktur tersier dari enzim tirosinase yang mengkristal adalah reseptor 2Y9X. Empat subunit reseptor yaitu subunit A, B, C, dan D, semuanya memiliki fungsi yang sama dan merupakan protein tetramerik. Penelitian ini hanya menggunakan salah satu subunit yang memiliki afinitas paling kuat dengan ligan alami (*native ligand*) yang tertambat pada reseptor yaitu tropolone (0TR) dengan resolusi struktur kristal 2Y9X yaitu 2.78 Å. Preparasi protein dilakukan untuk memperoleh struktur protein target tanpa *native ligand* yang akan digunakan dalam proses validasi metode.

Reseptor 2Y9X ditambatkan kembali ke tropolon ligan alami untuk memvalidasi pendekatan docking molekuler. Hal ini penting untuk mencapai area docking yang sesuai dalam bentuk gridbox yang berisi situs aktif enzim sebagai target docking molekuler.[14] Parameter diterimanya validasi metode ditunjukkan dengan nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*) < 2.0 Ångström.[11] Dengan membandingkan konformasi sebenarnya dengan konformasi yang dihasilkan dari penambatan molekuler, maka nilai RMSD menunjukkan tingkat keakuratan suatu teknik penambatan molekuler.[14] Berdasarkan hasil redocking didapatkan nilai RMSD 1,97 Å dan energi afinitas sejumlah -4,99 kcal/mol yang menandakan bahwa metode yang digunakan dapat dikatakan valid sehingga proses *docking* senyawa uji dari ekstrak kulit kayu bangkal dapat dilakukan. Semakin dekat atom dengan konformasi aslinya maka semakin baik posisinya dalam ligan yang ditunjukkan dengan nilai RMSD yang semakin kecil.[14]

Untuk mengetahui nilai energi afinitas masing-masing ligan uji yang digunakan dalam penelitian, dilakukan penambatan molekuler. Aktivitas penghambatan enzim meningkat dengan menurunnya nilai energi afinitas. Untuk mengamati interaksi antara ligan dan reseptor, data molekuler docking diperiksa lebih lanjut menggunakan visualisasi 2D dan 3D. Salah satu faktor yang digunakan untuk menilai kualitas ligan yang digunakan dalam molekuler docking adalah energi afinitas antara ligan dan reseptor.

Interaksi yang lebih mudah terjadi antara ligan dan reseptor diwakili oleh energi afinitas yang rendah. Reaksi kimia dapat terjadi dengan sendirinya jika energi bebas Gibbs negatif atau kurang dari nol, sesuai dengan hukum termodinamika. Dibandingkan dengan ligan dengan energi afinitas lebih tinggi, ligan dengan tingkat energi afinitas lebih rendah dapat terhubung dengan reseptor lebih mudah. Terdapat hubungan positif antara nilai konstanta penghambatan dengan energi afinitas yang lebih rendah. Nilai konstanta penghambatan menurun seiring dengan menurunnya nilai energi afinitas.[14] Hasil *binding energy* dan penghambatan konstanta ligan dari hasil *molecular docking* dapat ditemukan pada tabel 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.

Tabel 3. Energi Afinitas dan Konstanta Inhibisi Ligan Hasil Penambatan Molekuler

| No. | Senyawa | Energi Binding (ΔG) | Konstanta Inhibisi |
|---|---|---|---|
| 1. | 0TR (*Tropolone*) | -4,99 | 220.19 uM |
| 2. | *Kojic Acid* (obat) | -4,06 | 1.06 mM |
| 3. | *Urolithin B 3-O-glucuronide* | -8,81 | 350.64 nM |
| 4. | *4-(tert-butyl)-N'-[(2,3-dihydro-1-benzofuran-5-ylcarbonyl)oxy]benzenecarboximidamide* | -8,28 | 848.83 nM |
| 5. | *2-Hydroxy-3-{[3-(4-hydroxyphenyl)-4-oxo-4H-chromen-7-yl]oxy}succinic acid* | -7,21 | 5.17 uM |
| 6. | *(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* | -6,96 | 7.96 uM |
| 7. | *Cartazolate* | -6,45 | 18.72 uM |
| 9. | *5-[4-(4-methoxyphenoxy)phenyl]-1H-pyrazole* | -6,23 | 27.01 uM |
| 10. | *MHPG* | -5,83 | 53.42 uM |
| 11. | *Propapyriogenin A2* | -5,81 | 55.06 uM |
| 12. | *D-(-)-Mannitol* | -5,10 | 182.75 uM |
| 13. | *D-(-)-Quinic acid* | -4,05 | 1.08 mM |
| 14. | *Sorbitan, monododecanoate* | -3.67 | 2.03 mM |
| 15. | *1-(Carboxymethyl)cyclohexanecarboxylic acid* | -3,18 | 4.65 mM |
| 16. | *(±)12(13)-DiHOME* | -3,00 | 6.31 mM |
| 17. | *(15Z)-9,12,13-Trihydroxy-15-octadecenoic acid* | -1,60 | 67.04 mM |
| 18. | *Azelaic acid* | -1,58 | 69.85 mM |

Pemeriksaan tambahan atas temuan Ligplot+ dan paket aplikasi lainnya digunakan untuk memvisualisasikan docking molekuler dalam dua dimensi. Temuan ini sesuai dengan residu asam amino reseptor yang berinteraksi dengan ligan. Tentukan ikatan hidrogen mana yang ada, berapa panjangnya, dan atom asam amino mana yang terlibat dalam pembentukan ikatan berdasarkan data gambar dua dimensi. Sedangkan program aplikasi PyMOL digunakan untuk memvisualisasikan tiga dimensi dan menunjukkan lokasi pengikatan ligan-reseptor.[14]

Menggunakan residu asam amino MET B:280 dan ASN B:260 sebagai referensi, asam kojat, juga dikenal sebagai *kojic acid*, membentuk dua ikatan hidrogen dengan reseptor. Selain itu, asam kojat dan residu asam amino ALA B:286 berinteraksi secara hidrofobik. Sementara itu, residu asam amino MET B:280 memungkinkan tropolon ligan endogen membentuk ikatan hidrogen dengan reseptor. Kontak hidrofobik Tropolone dengan reseptor dimediasi oleh residu asam amino yang sama, khususnya ALA B:286. Selanjutnya, analisis lanjutan dilakukan untuk mengetahui lebih detail interaksi ikatan yang terbentuk antara enam belas ligan uji dengan enzim tirosinase. Tabel 4 menunjukkan jumlah interaksi yang terjadi serta residu asam amino yang terlibat dalam interaksi molekuler dengan ligan uji.

Menurut temuan, setiap ligan uji memiliki kemampuan untuk membuat ikatan hidrogen dan berinteraksi dengan sisi aktif enzim tirosinase dalam satu hingga empat cara berbeda. Semakin kuat hubungan antara zat uji dan ligan, semakin banyak ikatan hidrogen yang dihasilkan.[16] 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.

Tabel 4. Interaksi Residu Asam Amino

| No | Senyawa | Ikatan Hidrogen Konvensional | Ikatan Hidrogen Karbon | Jumlah |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 0TR (Tropolone) | MET B:280 | - | 1 |
| 2 | *Kojic Acid* (obat) | ASN B:260, MET B:280 | - | 2 |
| 3 | *Urolithin B 3-O-glucuronide* | ASN B:260 | - | 1 |
| 4 | *4-(tert-butyl)-N'-[(2,3-dihydro-1-benzofuran-5-ylcarbonyl)oxy]benzenecarboximidamide* | ASN B:260, GLU B:256 | HIS B:296 | 3 |
| 5 | *2-Hydroxy-3-{[3-(4-hydroxyphenyl)-4-oxo-4H-chromen-7-yl]oxy}succinic acid* | ASN B:260 | - | 1 |
| 6 | *(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* | ASN B:260 | HIS B:85 | 2 |
| 7 | *Cartazolate* | - | ASN B:260, HIS B:259, MET B:280 | 3 |
| 8 | *3-(2-naphthyl)-5-(trifluoromethyl)-1H-pyrazole* | ASN B:260 | - | 1 |
| 9 | *5-[4-(4-methoxyphenoxy)phenyl]-1H-pyrazole* | ARG B:268 | - | 1 |
| 10 | *MHPG* | VAL B:283 | ASN B:260, HIS B:259 | 3 |
| 11 | *Propapyriogenin A2* | HIS B:85 | PRO B:284 | 2 |
| 12 | *D-(-)-Mannitol* | - | HIS B:61, HIS B:259, VAL B:283 | 3 |
| 13 | *D-(-)-Quinic acid* | ASN B:260 | HIS B:61, VAL B:283 | 3 |
| 14 | *Sorbitan, monododecanoate* | ASN B:81, CYS B:83, HIS B:85 | - | 3 |
| 15 | *1-(Carboxymethyl)cyclohexanecarboxylic acid* | 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 |

## PENUTUP

Berdasarkan hasil analisis in silico dengan metode *molecular docking* antara senyawa aktif ekstrak kulit kayu bangkal dengan enzim tirosinase didapatkan kesimpulan yaitu terdapat beberapa senyawa aktif ekstrak kulit kayu bangkal yang berpotensi menunjukkan inhibisi besar terhadap enzim tirosinase dibandingkan dengan ligan alami serta ligan pembanding yaitu asam kojat. Interaksi molekuler yang terjadi antara senyawa aktif ekstrak kulit kayu bangkal dengan sisi aktif enzim tirosinase berupa ikatan hidrogen yang jika interaksi menjadi lebih kuat maka lebih banyak ikatan hidrogen yang tercipta. Senyawa aktif ekstrak kulit kayu bangkal (*Nauclea subdita*) dapat dijadikan salah satu alternatif untuk antihiperpigmentasi.

Melakukan penelitian lanjutan yaitu *molecular dynamics* senyawa aktif ektrak kulit kayu bangkal terhadap enzim tirosinase. *Molecular dynamics* dilakukan untuk melihat kestabilan interaksi antara ligan dan reseptor dari waktu ke waktu. Melakukan prediksi toksisitas untuk mengetahui keamanan dan efek toksik dari masing-masing ligan bagi tubuh manusia. Untuk mendapatkan hasil yang lebih komprehensif, disarankan agar penelitian ini dilanjutkan dengan penelitian secara in vitro, guna mengevaluasi mekanisme pada tingkat seluler, maupun secara in vivo, untuk mengkonfirmasi efektivitas dan keamanan dalam sistem biologis yang lebih kompleks.

## DAFTAR PUSTAKA

1. 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.
2. 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.
3. 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.
4. 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.
5. Syafira AZ, Mari OA. Pengembangan e-modul pembuatan bedak dingin dengan bahan dasar beras dan ekstrak singkong. Jurnal Tata Rias. 2023;12(2):91-101.
6. Noena RAN, Base NH. Formulasi dan karakteristik bedak dingin kombinasi beberapa pati. Jurnal Kesehatan Yamasi Makassar. 2022;6(2):57-64.
7. Fadillah H. Pupur dingin sebagai perawatan wajah khas masyarakat Banjar. Center for Open Science. 2021;2(1):1-7.
8. Amanda, Afni N, Darwis M, Sapar, Samsinar. Bedak dingin ekstrak temulawak. Jurnal Pengabdian kepada Masyarakat Nusantara. 2023;4(2):1035-1041.
9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. Kim S, Thiessen PA, Bolton EE, et al. PubChem substance and compound databases. Nucleic Acids Res. 2016;44(D1):D1202-D1213.
14. 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):96-107.
15. 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.
16. 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.