

Uji Potensi Triterpenoid dari Kulit Batang Waru Jawa (*Hibiscus tiliaceus* L.) sebagai Kandidat Antiinflamasi pada Mencit (*Mus musculus*) Model Rheumatoid Arthritis Berbasis *in Silico*

Lisa Savitri^{1*}, Elfred Rinaldo Kasimo¹, Datin An Nisa Sukmawati²,
Syntia Tanu Juwita¹, Eka Wahyuningtyas¹, Ana Retnowati¹

¹Program Studi Teknologi Laboratorium Medis, Universitas Kadiri, Jalan Selomangleng no. 1 Kota Kediri

²Program Studi Farmasi, Universitas Kadiri, Jalan Selomangleng no. 1 Kota Kediri

*Correspondence email: lisasavitri@unik-kediri.ac.id

Abstrak. Waru jawa (*Hibiscus tiliaceus* L.) merupakan tanaman yang berfungsi sebagai antiinflamasi. Senyawa dari tumbuhan waru jawa terutama kulit batangnya dapat dikelompokkan menjadi alkaloid, flavonoid, triterpenoid, dan steroid. Kandungan triterpenoid dari kulit batang waru jawa diuji aktivitas biokimianya, sehingga diharapkan kulit batang waru jawa dapat dimanfaatkan secara optimal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi triterpenoid dari kulit batang waru jawa sebagai kandidat antiinflamasi pada mencit (*Mus musculus*) model rheumatoid arthritis berbasis *in silico*. Analisis potensi triterpenoid pada mencit dilakukan dengan menggunakan aplikasi STITCH, yang merupakan *database* interaksi yang diketahui dan diprediksi antara bahan kimia dan protein yang ditemukan pada makhluk hidup. Interaksi yang dimaksud adalah asosiasi fisik dan fungsional, data yang terdapat dalam STITCH berasal dari prediksi komputasional, transfer pengetahuan antar organisme, dan dari interaksi yang dikumpulkan dari *database* lain. Analisis mekanisme triterpenoid kulit batang waru jawa terhadap mencit model rheumatoid arthritis berbasis *in silico* menggunakan aplikasi Kegg. Berdasarkan hasil analisis dapat diketahui bahwa triterpenoid yang berasal dari kulit batang waru jawa berperan penting dalam mengurangi peradangan. Triterpenoid menargetkan NF- κ B, yang mengarah ke *downregulasi*. Triterpenoid telah ditemukan memiliki banyak fungsi, meskipun konsentrasi efektifnya untuk berbagai efek seluler dapat sangat bervariasi. Tergantung pada dosis yang diberikan, triterpenoid dapat menginduksi efek antiinflamasi, penghambatan proliferasi, apoptosis, sitoprotektif, dan pembeda tumor.

Kata kunci: kulit batang waru jawa; triterpenoid; rheumatoid arthritis; *in silico*

Abstract. Waru jawa (*Hibiscus tiliaceus* L.) is a plant that functions as an anti-inflammatory. Compounds from the waru jawa plant, especially the bark can be grouped into alkaloids, flavonoids, triterpenoids, and steroids. The content of triterpenoids from the waru jawa stem bark was tested for their biochemical activity, so that it is expected that the bark of Javanese waru stems can be used optimally. This study aims to determine the potential of triterpenoids from waru jawa stem bark as anti-inflammatory candidates in mice (*Mus musculus*) rheumatoid arthritis model in *in silico*-based. Potential analysis of triterpenoids in mice was carried out using the STITCH, which is a database of known and predicted interactions between chemicals and proteins found in living things. Interactions in question are physical and functional associations, the data contained in STITCH comes from computational predictions, transfer of knowledge between organisms, and from interactions collected from other databases. Analysis of the triterpenoid mechanism of waru jawa stem bark against rheumatoid arthritis model mice in *in silico*-based using the bioinformatics application Kegg. Based on the results of the analysis, it can be seen that triterpenoids derived from waru jawa stem bark sources play an important role in reducing inflammation. The triterpenoids target NF- κ B, leading to its *downregulation*. Triterpenoids have been found to have many functions, although their effective concentrations for various cellular effects may vary widely. Depending upon the dose administered, triterpenoids can induce anti-inflammatory, proliferation-arresting, apoptotic effects, cytoprotective, and tumor-differentiating.

Keywords: waru jawa stem bark; triterpenoid; rheumatoid arthritis; *in silico*

PENDAHULUAN

Rheumatoid arthritis (RA) adalah penyakit autoimun sistemik (Symmons *et al.*, 2006). Insiden dan prevalensi RA berbeda-beda berdasarkan populasi, metode statistik, dan definisi penyakit. Kejadian RA di Amerika Utara dan Eropa Utara diperkirakan 20 sampai 50 kasus per 100.000 penduduk dan peningkatan prevalensi dari 0,5% menjadi 1,1%. Insiden dan prevalensi lebih rendah telah dilaporkan di Eropa Selatan dan beberapa negara berkembang. RA adalah penyakit multifaktorial yang dihasilkan dari interaksi antara faktor genetik dan lingkungan (Tobon *et al.*, 2009).

Darmawan *et al.* (1993) dalam Wong, *et al.* (2010) melaporkan hasil penelitian mengenai RA di Jawa Tengah yang dilakukan di dua pedesaan dengan populasi yang terdiri dari 2.499 perempuan dan 2.184 laki-laki (total 4.683) dan dua kota urban dengan populasi 590 perempuan dan 481 laki-laki (total 1.071) (tidak ada stratifikasi sosial dari populasi tersebut). Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa kemungkinan penderita RA di pedesaan sebesar 0,3%, sedangkan di perkotaan sebesar 0,5%. Prevalensi penyakit RA meningkat sejalan dengan peningkatan usia. Prevalensi penyakit ini pada penduduk usia 65 tahun ke atas di

negara-negara maju sebesar 41-53% pada tahun 2005 (Mariler dan Eggimann, 2005). RA merupakan inflamasi sendi kronik yang ditandai dengan pola tulang yang khas dan kerusakan sendi.

Inflamasi kronik RA menyebabkan hipertropi membran sinovium, sehingga terjadi hambatan aliran darah dan nekrosis sel. Interleukin-1 beta (IL-1 β) dan tumor nekrosis faktor- α (TNF- α). Beberapa studi menunjukkan penurunan insiden dan prevalensi setelah tahun 1960-an (Tobon *et al.*, 2009). Obat yang paling banyak digunakan untuk terapi nyeri, inflamasi, RA, dan osteoarthritis adalah obat antiinflamasi nonsteroid (AINS). Mekanisme aksi obat AINS adalah melalui penghambatan aktivitas enzim siklooksigenase (COX). Enzim ini berperan dalam mengkatalisis biosintesis prostaglandin (PG), prostasiklin, dan tromboksan, selain menunjukkan efek antiinflamasi, obat ini juga menunjukkan efek kemoprotektif pada profilaksis kanker kolorektal dan payudara (Smith *et al.*, 1996; Ashok dan Gaur, 2014; Gupta dan Yadav, 2011).

Popularitas terapi herbal mulai meningkat saat ini (Kamienksy dan Keogh, 2006). Indonesia merupakan *megabiodiversity* terbesar di dunia yang terdiri dari tumbuhan tropis dan biota laut. Bagian batang secara tradisional oleh masyarakat lokal untuk membuat tali dan juga ada yang sebagai bahan kayu bakar. Berdasarkan laporan di atas, penelitian ini mengusulkan untuk melakukan uji potensi triterpenoid dari kulit batang waru jawa (*Hibiscus tiliaceus* L.) sebagai kandidat antiinflamasi pada mencit (*Mus musculus*) model rheumatoid arthritis berbasis *in silico*.

METODE

Populasi dalam penelitian ini adalah triterpenoid dari kulit batang waru jawa (*Hibiscus tiliaceus* L.). Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah triterpenoid dari kulit batang waru jawa (*Hibiscus tiliaceus* L.) berbasis *in silico*.

Mengkaji Kandungan Zat dalam Kulit Batang Waru Jawa

Zat yang terdapat pada kulit batang waru jawa (*Hibiscus tiliaceus* L.) dikaji secara bioinformatika menggunakan aplikasi PubChem, selanjutnya dilakukan pemilihan pada komponen zat yang mempunyai persentase paling tinggi dan secara kajian teori dapat dijadikan sebagai bahan antiinflamasi pada rheumatoid arthritis.

Mengkaji Potensi Triterpenoid

Pengkajian potensi triterpenoid pada kulit batang waru jawa (*Hibiscus tiliaceus* L.) dilkerjakan secara bioinformatika dengan aplikasi PASS Online.

Menganalisis Kerja Triterpenoid dari Kulit Batang Waru Jawa (*Hibiscus tiliaceus* L.) sebagai Kandidat

Antiinflamasi pada Mencit (*Mus musculus*) Model Rheumatoid Arthritis Berbasis in Silico

Analisis mekanisme triterpenoid pada kulit batang waru jawa (*Hibiscus tiliaceus* L.) sebagai kandidat antiinflamasi pada mencit (*Mus musculus*) model rheumatoid arthritis menggunakan aplikasi bioinformatika Kegg.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Merujuk pada penelitian yang telah dilakukan oleh Savitri dan Ihsan (2020) mengenai isolasi triterpenoid dari tanaman waru jawa (*Hibiscus tiliaceus* L.) dengan maserasi menggunakan n-heksana menunjukkan bahwa maserasi 3,2 kg serbuk kering kulit batang waru jawa menghasilkan ekstrak kental n-heksana sebesar 13,06 g.

Uji fitokimia menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard menunjukkan ekstrak kental n-heksana mengandung triterpenoid. Ekstrak kental n-heksana yang dipisahkan dengan kromatografi kolom menghasilkan isolat triterpenoid sebanyak 6 fraksi. Identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan adanya serapan maksimum untuk fraksi 1, 2, dan 3 pada panjang gelombang 216,50 nm, 217 nm, dan 228,50 nm (Savitri dan Ihsan, 2020).

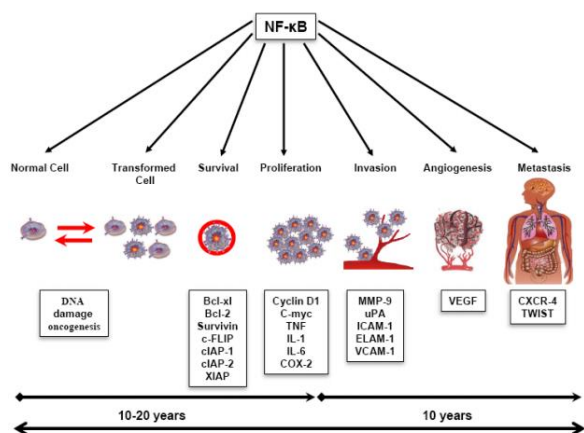
Triterpenoid dari kulit batang waru jawa berbasis *in silico* yang didapatkan dari <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/65064> dengan Canonical SMILES sebagai berikut:
CC1(CCC2(CCC3(C(=CCC4C3(CCC5C4(CCC(C5(C)C)OS(=O)(=O)O)O)C)C)C2C1)C)C(=O)O)C.

Hasil analisis potensi triterpenoid pada kulit batang waru jawa ditampilkan pada Tabel berikut ini.

Tabel 1. Analisis Potensi Triterpenoid pada Kulit Batang Waru Jawa (*Hibiscus tiliaceus* L.)

Pa	Pi	Activity
0,959	0,002	Benzoate-CoA ligase inhibitor
0,951	0,001	Phospholipase C inhibitor
0,949	0,002	Hepatoprotectant
0,949	0,002	Wound healing agent
0,935	0,002	Chemopreventive
0,914	0,001	Transcription factor NF kappa B stimulant
0,914	0,001	Transcription factor stimulant
0,900	0,003	Insulin promoter
0,892	0,001	Chitinase inhibitor

Berdasarkan analisis yang dilakukan diketahui bahwa triterpenoid pada kulit batang waru jawa merupakan *transcription factor NF kappa B (NF- κ B) stimulant*, dengan nilai Pa 0,914 dan Pi 0,001, sehingga memiliki makna bahwa aktivitas tersebut memiliki nilai yang tinggi. Peran jalur inflamasi yang dimediasi NF- κ B dalam transformasi seluler dapat dilihat pada Gambar berikut ini.



Gambar 1. Peran Jalur Inflamasi yang Dimediasi NF-κB dalam Transformasi Seluler (Vivek *et al.*, 2010)

Pada aktivasi protein IκBα, penghambat NF-κB, mengalami fosforilasi, ubiquitinasi, dan degradasi. p50 dan p65 kemudian dilepaskan untuk ditranslokasikan ke nukleus, berikatan dengan DNA spesifik sekuens hadir dalam promotor berbagai gen, dan memulai transkripsi lebih dari 400 gen. Kinase yang menyebabkan fosforilasi IκBα disebut IκBα kinase (IKK). Sedangkan IKKβ memediasi jalur aktivasi NF-κB klasik/kanonik, IKKγ memediasi jalur nonkanonik jalan. IKK sendiri harus diaktifkan sebelum dapat mengaktifkan IκBα. Lebih dari selusin kinase memiliki telah dijelaskan yang dapat mengaktifkan IKK.

Sejumlah besar bukti menandakan peran peradangan dalam perkembangan kanker melalui mediator seperti spesies oksigen reaktif (ROS), radikal bebas, dan sitokin inflamasi seperti tumor faktor nekrosis-α (TNFα), limfotoksin, dan faktor angiogenik juga diketahui mempengaruhi onkogenesis adalah jalur pensinyalan yang pada sel normal terlibat dalam homeostasis jaringan.

Beberapa target molekul triterpenoid yang paling umum diketahui terlibat dalam pengobatan dan pencegahan kanker telah ditargetkan sesuai dengan pengetahuan yang komprehensif tentang pertumbuhan tumor dan metastasis. Pendekatan ini akan memaksimalkan efek triterpenoid dan meminimalkan efek samping dengan multitargeting sel atau proses yang memungkinkan kanker untuk bertahan hidup dan menyebar pada manusia. Peradangan mendorong perkembangan tumor baik melalui nonimun maupun imun.

NF-κB adalah faktor transkripsi sentral yang memediasi respon imun inflamasi dan bawaan. NF-κB mungkin diaktifkan oleh berbagai faktor, termasuk sitokin, mikroba patogen, dan oksidatif, genotoksik, fisiologis, atau faktor stres kimia. Selain itu, sitokin proinflamasi dan infeksi dapat memainkan peran penting dalam stimulasi aktivitas IKK, yang mengarah pada konstitutif aktivasi NF-κB (Karin *et al.*, 2004; Hayden *et al.*, 2004; Janssens *et al.*, 2006)

Disregulasi dan produksi yang berlebihan menyebabkan kanker dan penyakit lainnya. TNF juga berperan dalam aktivasi NF-κB dengan mengikat reseptor TNF yang ada di permukaan sel yang pada gilirannya memicu jalur yang mengarah pada aktivasi IKK (Aggarwal *et al.*, 2009). Interleukin adalah sekelompok sitokin yang dilepaskan dalam tubuh dari banyak sel sebagai respons terhadap berbagai rangsangan. Saat IL-1β bermain peran penting dalam respon inflamasi terhadap infeksi dengan meningkatkan ekspresi faktor adhesi endotel, sehingga memungkinkan infiltrasi leukosit di tempat infeksi, IL-6 adalah sitokin proinflamasi yang dilepaskan sebagai respons terhadap trauma atau kerusakan jaringan. IL-8, anggota dari keluarga kemokin CXC juga dikenal sebagai CXCL8, dapat berfungsi sebagai mitogenik, angiogenik, dan faktor mutagenik mempromosikan perkembangan kanker (Xie, 2001).

Sel-sel inflamasi dan regulasinya ditemukan untuk memfasilitasi angiogenesis dan mendorong pertumbuhan, invasi, dan metastasis sel tumor (Garg *et al.*, 2002). Tingkat normal beberapa enzim seperti *inducible nitric* oksida sintase (iNOS) dan COX-2 memainkan peran penting dalam respons perlindungan fisiologis terhadap cedera jaringan, tetapi jika diekspresikan dalam jumlah berlebihan, enzim inflamasi ini dapat menyebabkan karsinogenesis (Coussens *et al.*, 2002; Nathan, 2002; Balkwill *et al.*, 2005)

Pada jaringan tumor, kadar prostaglandin (PG) sering meningkat. PG merupakan mediator inflamasi endogen dan dibentuk dari asam arakidonat oleh COX-1 dan COX-2 yang dapat diinduksi. Produksi tingkat PG yang lebih tinggi diperkirakan menyebabkan cedera seluler dan akhirnya menyebabkan karsinogenesis dengan menghambat apoptosis, merangsang proliferasi sel, dan mempromosikan angiogenesis dan invasi tumor (Ulrich *et al.*, 2001). Triterpenoid sikloartana dari *Cimicifuga dahurica* menekan ekspresi protein cdc2 dan COX-2. Hasil ini menyiratkan bahwa triterpenoid memiliki aktivitas antitumor potensial dan mengarahkan sitotoksitasnya melalui apoptosis dan sel G2/M siklus penangkapan (Tian *et al.*, 2005).

SIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian yang telah dilakukan adalah triterpenoid dari kulit batang waru jawa (*Hibiscus tiliaceus* L.) memiliki potensi sebagai kandidat antiinflamasi pada mencit (*Mus musculus*) model rheumatoid arthritis berbasis *in silico*. Mekanisme potensi triterpenoid dari kulit batang waru jawa (*Hibiscus tiliaceus* L.) sebagai kandidat antiinflamasi adalah melalui faktor transkripsi NF-κB pada jalur COX-2 pada mencit (*Mus musculus*) model rheumatoid arthritis berbasis *in silico*, dengan nilai Pa 0,914 dan Pi 0,001, sehingga memiliki makna bahwa aktivitas tersebut memiliki nilai yang tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Aggarwal B.B., Vijayalekshmi R.V., Sung B. Targeting inflammatory pathways for prevention and therapy of cancer: short- term friend, long-term foe. *Clin. Cancer Res.* 2009;15:425–430.
- Ashok, K. & Gaur, A. 2014. Review Article: Remembering Cyclooxygenases: A Brief Review. *Asian Journal of Pharmaceutical Technology and Innovation*, 2 (4): 1-8.
- Garg A., Aggarwal B.B. Nuclear transcription factor-kappaB as a target for cancer drug development. *Leukemia*. 2002;16:1053–1068.
- Coussens L.M., Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature*. 2002;420:860–867.
- Balkwill F., Charles K.A., Mantovani A. Smoldering and polarized inflammation in the initiation and promotion of malignant disease. *Cancer Cell*. 2005;7:211–217.
- Gupta, V. & Yadav, S.K. 2011. Review Article: Cyclooxygenase-2: Pathway from Anti Inflammatory to Anti-Cancer Drugs. *International Journal of Pharmacy and Life Sciences*, 2(2): 571-582.
- Hayden M.S., Ghosh S. Signaling to NF-kappaB. *Genes Dev.* 2004;18:2195–2224.
- Janssens S., Tschopp J. Signals from within: the DNA-damage-induced NF-kappaB response. *Cell Death Differ.* 2006;13:773–784.
- Kamiensky, M. & Keogh J. 2006. *Vitamin and Minerals. In: Pharmacology Demystified.* USA: Mc.GrawHill Companies Inc.
- Karin M., Cao Y., Greten F.R., Li Z.W. NF kappaB in cancer: from innocent bystander to major culprit. *Nat. Rev. Cancer*. 2002;2:301-310.
- Mariler, M.M. & Eggimann, B.S. 2005. The Prevalence of Rheumatic Diseases in Elderly in Developed Countries and Its Evolution over Time. *Int. J. of Public Health*, 50 (1): 45-51.
- Nathan C. Points of control in inflammation. *Nature*. 2002;420:846–852.
- Savitri, L. & Ihsan, K. Aktivitas Triterpenoid Kulit Batang Waru Jawa (*Hibiscus tiliaceus* L.) terhadap Bakteri *Escherichia coli*. *Jurnal Kesehatan Perintis (Perintis's Health Journal)*, 7 (1) 2020: 41-50
- Savitri, L. & Ihsan, K. Uji Aktivitas Triterpenoid Kulit Batang Waru Jawa (*Hibiscus tiliaceus* L.) terhadap *Staphylococcus aureus*. *TEKLABMED Jurnal Teknologi Laboratorium Medik*, 1 (1) 2020: 13-20.
- Smith, W.L., Garavito, R.M., & DeWitt, D.L. 1996. Minireview: Prostaglandin Endoperoxide H Synthases (Cyclooxygenases)-1 and - 2. *The Journal of Biological Chemistry*, 271 (52): 33157-33160.
- Symmons, D., Mathers, C., & Pflieger, B. 2006. The Global Burden Rheumatoid Arthritis in the Year 2000. *Global Burden of Disease 2000*.
- Tian Z., Yang M., Huang F., Li K., Si J., Shi L., Chen S., Xiao P. Cytotoxicity of three cycloartane triterpenoids from *Cimicifuga dahurica*. *Cancer Lett.* 2005;226:65–75.
- Tobon, G.J., Youinou, P., & Saraux, A. 2009. *Autoimmunity Reviews: the Environment, Geo-Epidemiology, and Autoimmune Disease: Rheumatoid Arthritis*. Brest: Elsevier.
- Ulrich C.M., Potter J.D. Testing for colon neoplasia susceptibility variants at the human Cox2 locus. *J. Natl. Cancer Inst.* 2001;93:1572–1574.
- Vivek R. Yadav, Sahdeo Prasad, Bokyoung Sung, Ramaswamy Kannappan, and Bharat B. Aggarwal. Targeting Inflammatory Pathways by Triterpenoids for Prevention and Treatment of Cancer. *Toxins (Basel)*. 2010 Oct; 2(10): 2428–2466.
- Wong, R., Davis, A.M., Badley, E., Grewal, R., & Mohammed, M. 2010. *Prevalence of Arthritis and Rheumatic Diseases Around the World a Growing Burden and Implications for Health Care Needs*. Toronto: Arthritis Community Research and Evaluation Unit.
- Xie K. Interleukin-8 and human cancer biology. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2001;12:375–391.