ISSN 2086-8286

STUDI IN SILICO SENYAWA ANTIINFLAMASI DARI *Centella asiatica* MEMODULASI NLR PATHWAY SEBAGAI KANDIDAT TERAPI MULTIPLE SCLEROSIS

Muhammad Abdul Wahab*, Nugrahaningsih WH

Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang
Jl. Raya Sekaran,Gunungpati, Semarang 50229.

*Email: wahab99905@students.unnes.ac.id.

Abstrak

Multiple sclerosis merupakan penyakit autoimun neurodegeneratif yang ditandai oleh inflamasi kronis, demielinasi, dan kerusakan sistem saraf pusat. Aktivasi jalur NOD-like receptor (NLR) diketahui berperan penting dalam perkembangan neuroinflamasi yang mendasari progresivitas penyakit. Studi ini bertujuan untuk mengidentifikasi potensi aktivitas senyawa antiinflamasi Centella asiatica sebagai kandidat terapi multiple sclerosis melalui modulasi protein target pada jalur NLR dengan pendekatan in silico. Analisis dilakukan terhadap 15 senyawa aktif Centella asiatica yang didocking dengan protein Mitogen-Activated Protein Kinase 3 (MAPK3), Interleukin-6 (IL-6), Serine/Threonine-Protein Kinase N1 (PKN1), Protein Kinase C Delta Type Regulatory Subunit (PRKCD), Tyrosine Kinase 2 (TYK2), dan Janus Kinase 1 (JAK1). Hasil meliputi nilai binding affinity, karakteristik interaksi protein-ligan, serta prediksi farmakokinetika Blood–Brain Barrier (BBB). Hasil penelitian menunjukkan bahwa oleanolic acid, ursolic acid, dan betulonic acid memiliki afinitas pengikatan tertinggi terhadap MAPK3, dengan nilai afinitas pengikatan berturut-turut sebesar −8,8; −8,7; dan −8,6 kcal/mol. Asiatic acid menunjukkan afinitas yang baik terhadap IL-6 (−7,1 kcal/mol), sedangkan quercetin dan chlorogenic acid berinteraksi cukup kuat dengan PKN1 dan PRKCD. Analisis interaksi mengungkapkan bahwa kompleks MAPK3–oleanolic acid menghasilkan interaksi yang paling stabil melalui ikatan hidrogen yang kuat dan beberapa interaksi hidrofobik. Prediksi BBB menunjukkan bahwa geraniol, linalool, limonene, β-caryophyllene, chlorogenic acid, dan isovitexin memiliki peluang penetrasi ke sistem saraf pusat yang lebih baik. Temuan ini menunjukkan bahwa senyawa aktif Centella asiatica memiliki kemampuan untuk menargetkan beberapa regulator utama neuroinflamasi secara simultan, sehingga berpotensi menjadi kandidat terapeutik baru dalam pengembangan terapi multiple sclerosis berbasis bahan alam.

Kata Kunci: Centella asiatica; Multiple Sclerosis; NOD-Like Receptor Pathway; Molecular Docking; Neuroinflamasi.

Abstract

Multiple sclerosis is an autoimmune neurodegenerative disease characterized by chronic inflammation, demyelination, and damage to the central nervous system. Activation of the NOD-like receptor (NLR) pathway plays a key role in the development of neuroinflammation, which underlies disease progression. This study aims to identify the potential anti-inflammatory activity of compounds from Centella asiatica as therapeutic candidates for multiple sclerosis by modulating target proteins in the NLR pathway using an in silico approach. The analysis was conducted on 15 active compounds from Centella asiatica that were docked with the proteins Mitogen-Activated Protein Kinase 3 (MAPK3), Interleukin-6 (IL-6), Serine/Threonine-Protein Kinase N1 (PKN1), Protein Kinase C Delta Type Regulatory Subunit (PRKCD), Tyrosine Kinase 2 (TYK2), and Janus Kinase 1 (JAK1). The results included binding affinity values, protein-ligand interaction characteristics, and pharmacokinetic predictions for the blood–brain barrier (BBB). The study results showed that oleanolic acid, ursolic acid, and betulonic acid had the highest binding affinities for MAPK3, with binding affinity values of −8.8, −8.7, and −8.6 kcal/mol, respectively. Asiatic acid exhibited good affinity for IL-6 (−7.1 kcal/mol), while quercetin and chlorogenic acid interacted quite strongly with PKN1 and PRKCD. Interaction analysis revealed that the MAPK3–oleanolic acid complex forms the most stable interaction through strong hydrogen bonds and several hydrophobic interactions. BBB predictions indicate that geraniol,

linalool, limonene, β-caryophyllene, chlorogenic acid, and isovitexin have a higher likelihood of penetrating the central nervous system. These findings suggest that the active compounds in Centella asiatica can simultaneously target several key regulators of neuroinflammation, potentially serving as new therapeutic candidates for the development of natural-based therapies for multiple sclerosis.

***Keywords**: Centella asiatica; Multiple Sclerosis; NOD-Like Receptor Pathway; Molecular Docking; Neuroinflammation.*

PENDAHULUAN

Multiple sclerosis merupakan penyakit autoimun kronis yang menyerang sistem saraf pusat dan menjadi salah satu penyebab utama disabilitas neurologis pada usia produktif. Prevalensi global penyakit ini menunjukkan variasi geografis yang cukup signifikan, dengan angka yang relatif lebih rendah di kawasan Asia dibandingkan dengan Eropa dan Amerika. Di wilayah Asia Pasifik, prevalensi dilaporkan berkisar antara 0–20 kasus per 100.000 penduduk, meskipun angka ini kemungkinan masih mengalami underreporting akibat keterbatasan sistem pelaporan di beberapa negara (Cheong *et al*., 2018). Studi lain menunjukkan rentang prevalensi yang lebih luas, yaitu sekitar 0,77 hingga 85,8 per 100.000 penduduk, tergantung pada wilayah dan metode diagnosis yang digunakan (Eskandarieh *et al*., 2016). Tren peningkatan kasus mulai terlihat di beberapa negara Asia yang berkaitan dengan meningkatnya akses diagnosis dan kesadaran masyarakat terhadap penyakit ini (Cheong *et al*., 2018). Kondisi tersebut menunjukkan bahwa meskipun prevalensinya lebih rendah dibandingkan dengan negara Barat, beban penyakit multiple sclerosis di Asia terus meningkat dan memerlukan perhatian lebih lanjut dalam pengembangan strategi terapi.

Pendekatan terapi untuk multiple sclerosis hingga saat ini belum bersifat kuratif, melainkan berfokus pada pengendalian gejala dan perlambatan progresivitas penyakit melalui penggunaan terapi modifikasi penyakit serta agen imunomodulator. Terapi konvensional meliputi interferon, glatiramer acetate, dan agen biologis lain yang bekerja dengan menekan respons imun. Pendekatan berbasis fitomedisin mulai dikaji sebagai alternatif atau terapi tambahan, dengan beberapa tanaman seperti *Ginkgo biloba, Panax ginseng,* dan *Camellia sinensis* yang dilaporkan memiliki efek pada perbaikan gejala serta modulasi inflamasi (Farzaei *et al*., 2017). Penelitian terbaru juga menunjukkan bahwa pengobatan herbal tradisional di Asia Timur mulai banyak dieksplorasi untuk multiple sclerosis, meskipun bukti klinis yang tersedia masih terbatas dan memerlukan validasi lebih lanjut melalui uji klinis yang terstandar (Seo *et al*., 2021).

Centella asiatica digunakan secara luas dalam praktik pengobatan tradisional di berbagai negara seperti China, India, Filipina, Samoa, Tonga, Turki, hingga wilayah Afrika seperti Madagaskar dan Mauritius. Pemanfaatannya mencakup berbagai tujuan terapeutik, antara lain sebagai tonik, stimulan, dan alternatif untuk menjaga keseimbangan fungsi tubuh. Penggunaannya dalam gangguan sistem saraf juga tercatat di beberapa wilayah, seperti di India untuk kesehatan otak dan gangguan mental, serta di Tonga untuk kondisi kejang. Di Filipina, tanaman ini digunakan untuk menyembuhkan luka dan sakit kepala, sehingga memberikan indikasi awal mengenai potensi neuroprotektif.

Centella asiatica mengandung berbagai senyawa bioaktif yang dapat dikelompokkan ke dalam beberapa golongan utama, yaitu triterpenoid, flavonoid, terpenoid *volatile* (*essential oil*), senyawa fenolik, asam amino, lipid, dan mineral. Kelompok triterpenoid merupakan komponen utama yang paling khas, meliputi *asiatic acid, madecassic acid, asiaticoside, madecassoside, brahmic acid, brahmoside,* serta turunan lainnya seperti *centellic acid* dan *centelloside*. Senyawa ini diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi dan berperan dalam regenerasi jaringan. Selain itu, terdapat juga triterpenoid lain, seperti *ursolic acid, oleanolic acid,* dan *betulonic acid,* yang berkontribusi terhadap efek protektif terhadap sel. Kelompok flavonoid dan polifenol mencakup *quercetin, kaempferol, luteolin, rutin, astragalin, vitexin, isovitexin*, serta berbagai asam fenolat seperti asam klorogenat, asam gallat, asam ferulat, asam protokatekuat, dan asam syringat. Senyawa-senyawa ini berfungsi sebagai antioksidan yang mampu menangkal radikal bebas serta berperan dalam modulasi inflamasi.

Bagian tanaman *Centella asiatica* menunjukkan distribusi fitokimia yang tidak merata. Daun merupakan bagian yang paling dominan sebagai sumber fitokimia, dengan proporsi sekitar ±45–50% dari total senyawa teridentifikasi, terutama kaya akan vitamin, mineral, flavonoid, dan komponen nutrisi seperti asam askorbik, β-karoten, kaempferol, serta berbagai mineral (magnesium, kalsium, seng). Seluruh bagian tanaman menyumbang sekitar ±25–30%, yang umumnya mencakup senyawa triterpenoid utama seperti *asiatic acid, madecassic acid, madecassoside,* dan *betulinic acid.* Bagian pucuk berkontribusi sekitar ±15–20% dan didominasi oleh senyawa volatil seperti *limonene, linalool, geraniol,* dan *α-pinene* yang termasuk dalam fraksi minyak atsiri. Sementara itu, minyak atsiri (*essential oil*) secara spesifik menyumbang sekitar ±5–10%, dengan kandungan utama berupa *β-caryophyllene, β-pinene,* dan *germacrene D.* Senyawa dalam *Centella asiatica* menunjukkan dominasi aktivitas yang relevan dengan mekanisme *multiple sclerosis,* khususnya pada aspek inflamasi, stres oksidatif, dan neuroproteksi. Sekitar ±40–45% senyawa yang teridentifikasi memiliki aktivitas antiinflamasi dengan kemampuan menghambat mediator inflamasi, enzim proinflamasi, atau sitokin. Contoh yang paling berpotensi meliputi *α-pinene, α-terpineol, asiaticoside, asiaticoside A,* serta *β-caryophyllene,* yang diketahui berperan dalam modulasi respons inflamasi dan berpotensi menekan aktivasi *inflammasome*. Aktivitas ini menjadi kunci untuk menghambat jalur seperti NOD-like receptor signaling pathway. Kelompok aktivitas antioksidan mencakup sekitar 30–35% yang berperan dalam menetralkan radikal bebas dan menurunkan stres oksidatif sebagai pemicu inflamasi. Senyawa seperti *ascorbic acid, β-carotene, quersetin,* dan *kaempferol* menunjukkan aktivitas sebagai free radical scavenger dan inhibitor enzim oksidatif. Aktivitas ini secara tidak langsung berkontribusi pada penghambatan inflamasi dan mendukung stabilitas sel saraf. Selain itu, sekitar ±15–20% senyawa menunjukkan aktivitas neuroprotektif dan modulasi sistem saraf, termasuk *α-chamigrene, aminobutyrate,* dan *linalool*, yang berperan dalam menjaga fungsi neuron serta memodulasi neurotransmisi. Sebagian kecil senyawa lainnya, sekitar ±5–10%, menunjukkan aktivitas tambahan seperti imunomodulator, antiproliferatif, dan proteksi jaringan. Senyawa seperti *ursolic acid, oleanolic acid,* dan *betulinic acid* berperan dalam regulasi respons imun serta perlindungan sel terhadap kerusakan. Distribusi aktivitas biologis ini menunjukkan bahwa senyawa dalam *Centella asiatica* bekerja secara multi-target, dengan fokus pada antiinflamasi dan antioksidan, serta didukung oleh efek neuroprotektif. Kombinasi aktivitas tersebut memperkuat potensi senyawa fitokimia di dalamnya sebagai kandidat terapi berbasis multimekanisme untuk penyakit neurodegeneratif seperti *multiple sclerosis*.

METODE

Pendekatan yang digunakan adalah pendekatan kualitatif dengan salah satu metode bioinformatika, yaitu *in silico*. Metode *in silico* yang digunakan adalah *molecular docking*, yang dibagi menjadi tahap koleksi, seleksi, karakterisasi, unifikasi, korelasi, dan docking.

Tahap Koleksi

Koleksi dilakukan menggunakan website *Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases, U.S. Department of Agriculture* untuk mencari, mengumpulkan, dan menganalisis senyawa fitokimia yang terkandung dalam *Centella asiatica.* Aktivitas biologis senyawa tersebut dianalisis dan disaring untuk menentukan senyawa yang memiliki aktivitas antiinflamasi atau aktivitas yang mendukung aktivitas lainnya. Koleksi kedua dilakukan melalui *website pubchem* (*https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/*) untuk mengoleksi kode canonical SMILES dari setiap senyawa fitokimia tersebut.

Tahap Seleksi

Seleksi dilakukan dengan memilih senyawa fitokimia yang memiliki aktivitas antiinflamasi serta aktivitas biologis lain yang didukung oleh *Dr. Duke's Phytochemical and Ethnobotanical Databases, U.S. Department of Agriculture*. Temuan tersebut dilanjutkan dengan verifikasi menggunakan website *PASS Online* (*https://way2drug.com/PassOnline/*) untuk melihat nilai Pa dari senyawa antiinflamasi atau senyawa yang memiliki aktivitas pendukung tersebut. Pa>0,7 diambil sebagai kriteria inklusi senyawa fitokimia potensial, sedangkan Pa<0,7 merupakan senyawa fitokimia yang dieksklusi karena kurangnya riset yang signifikan.

Tahap Karakterisasi

Senyawa yang sudah diseleksi dan dikumpulkan SMILES-nya akan diinput ke *website SwissADME* (*https://www.swissadme.ch/index.php*), kemudian dilakukan running hingga muncul karakteristik fitokimia senyawa tersebut. Hasil tersebut dianalisis untuk menentukan apakah dapat menembus *blood-brain barrier*. Kriteria senyawa yang baik untuk kandidat obat adalah senyawa dengan 6 karakteristik yang diinklusi untuk mengetahui apakah senyawa dapat masuk ke blood-brain barrier, yaitu lipofilisitas, ukuran, polaritas, kelarutan, saturasi, dan fleksibilitas.

Lipofilisitas (LIPO - XlogP3): Senyawa harus bersifat lipofilik (larut dalam lemak/hidrofobik) agar dapat menembus membran sel endotel yang kaya akan lemak. LogP optimal sering berada dalam kisaran 1,5 hingga 2,5, dengan batas logP yang disarankan adalah −0,7 hingga +5,0. Ukuran (SIZE - Berat Molekul): Molekul harus kecil; idealnya memiliki berat molekul < 500 dalton (Da). Molekul yang lebih besar sulit berdifusi secara pasif. Polaritas (POLAR - PSA): Senyawa harus memiliki polaritas rendah yang diukur dengan Polar Surface Area (PSA). Nilai PSA yang disarankan adalah < 90 Å². Kelarutan (INSOLU - Kelarutan Air/Log S): Meskipun harus lipofilik, senyawa tidak boleh terlalu insolubil (tidak larut) dalam air. Kelarutan (ESOL/log S) disarankan berada dalam kisaran 0–6, sehingga senyawa masih dapat larut dalam lingkungan darah (aqueous). Saturasi (INSATU): Senyawa dengan tingkat jenuh (saturation) yang lebih tinggi cenderung lebih mudah menembus BBB dibandingkan dengan senyawa yang sangat tidak jenuh, karena hal ini memengaruhi fleksibilitas dan ukuran molekul. Fleksibilitas (FLEX): Fleksibilitas molekul yang diukur dari jumlah ikatan yang dapat berputar (rotatable bonds) sebaiknya tidak melebihi 9 (fleksibilitas rendah hingga sedang).

Tahap Unifikasi

Canonical SMILE dari senyawa fitokimia tersebut diperoleh melalui proses pengumpulan kode UNIPROT protein target menggunakan *website SwissTargetPrediction* (*https://www.swisstarget prediction.ch/*), kemudian dikumpulkan dan dianalisis.

Tahap Korelasi

Kode UNIPROT dari protein target pada semua senyawa fitokimia disusun secara vertikal, kemudian diinput ke *website Stringdb* (*https://string-db.org/*). Selanjutnya, dilakukan proses *running* untuk mendapatkan jaringan antarprotein target, dilakukan analisis, dan dipilih *KEGG pathway*. Jalur biologis yang dipilih adalah hsa04621 (*NOD-like receptor signaling pathway*) sebagai fokus in silico. UNIPROT yang muncul pada jalur tersebut ditandai, kemudian dilakukan proses korelasi antara protein target, senyawa fitokimia, dan jalur biologisnya.

Tahap Docking

Molekul reseptor dikoleksi sebagai model 3D pada PDB (*Protein Data Bank*) dan dipilih protein non-mutan dalam format PDB. Molekul ligan dikoleksi sebagai model 3D di *Pubchem* dalam format SDF. *Software PyMOL* juga digunakan untuk menghilangkan air dan menambahkan polar pada kedua jenis molekul tersebut, sembari mengganti format file menjadi PDB. Ligan dimasukkan file-nya ke dalam *software PyRx* pada menu *Open Babel*, lalu diminimasi untuk diunduh kembali sebagai file PDB. Reseptor dan ligan diinput pada menu *Autodock Vina*, lalu *grid box* disesuaikan agar mencakup semua molekul; bisa dilakukan dengan menu *Maximize*. Setelah itu, proses dijalankan hingga diperoleh nilai *binding affinity* untuk kedua molekul tersebut. Nilai *binding affinity* diambil sebagai yang paling besar, dan RMSD (*lower/upper bound*) paling rendah untuk posisi yang paling stabil. Visualisasi 3D dilakukan dengan mengunduh file posisi ligan hasil docking, kemudian menyatukannya kembali dengan reseptornya di *software PyMOL*, lalu diunduh dalam format PDB dan di-*screenshot*. Interaksi antara reseptor dan ligan dapat dilihat pada *software Discovery Studio* dengan mengunggah hasil visualisasi 3D dalam format PDB, lalu memilih mode *Interactions*. Pilih ukuran pada interaksi yang terbentuk. Kemudian, jika sudah tepat dan ada interaksi di antara keduanya yang ditandai dengan terbentuknya garis berwarna berukuran tertentu, visualisasikan ke 2D dengan memilih mode tersebut. Hasilnya akan terlihat jelas jenis interaksi yang terbentuk, pada asam amino apa, dan berapa banyak interaksi yang terjadi dengan lengan ligan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kriteria inklusi dan eksklusi sering digunakan untuk menilai kelayakan senyawa berdasarkan parameter *drug-likeness* yang digunakan dalam studi awal terapi. Parameter yang digunakan yaitu lipofilisitas (LIPO) yang dinilai berdasarkan nilai XLogP3, yang idealnya berada pada rentang -0,7 hingga +5,0, karena nilai di luar rentang tersebut dapat memengaruhi kemampuan senyawa untuk menembus membran biologis. Ukuran molekul (SIZE) ditentukan dari berat molekul (MW), dengan batas kurang dari 500 Da agar senyawa lebih mudah diserap. Polaritas (POLAR) diukur melalui nilai *Topological Polar Surface Area* (TPSA) yang sebaiknya kurang dari 90 Å² untuk mendukung permeabilitas membran.

Kelarutan (INSOLU) dinilai dari Log S, dengan kisaran optimal antara 0 hingga -6, karena senyawa yang terlalu tidak larut akan sulit didistribusikan ke seluruh tubuh. Tingkat kejenuhan (INSATU) dilihat dari *Fraction* Csp3, yang sebaiknya lebih dari 0,10 untuk menghindari struktur yang terlalu aromatis dan datar, sehingga dapat memengaruhi interaksi biologis. Fleksibilitas (FLEX) diukur dari jumlah rotatable bonds yang tidak melebihi 9, karena fleksibilitas yang terlalu tinggi dapat menurunkan stabilitas interaksi dengan target biologis. Untuk memahami bagaimana masing-masing senyawa dalam penelitian ini termasuk dalam inklusi atau eksklusi, dapat merujuk pada Tabel 1.

Tabel 1. Senyawa kategori *high dan medium*

Nama Senyawa	LIPO	SIZE (Da)	PSA (Å²)	INSOLU	INSATU	FLEX	Kategori	Eksklusi Point
Asiatic acid	5.70	488.70	97.99	-6.33	0.90	2	*Medium*	3 (LIPO, PSA, NSOLU)
Madecassic acid	4.36	504.70	118.22	-5.58	0.90	2	*Medium*	2 (SIZE, PSA)
Quercetin	1.54	302.24	131.36	-3.16	0.00	1	*Medium*	2 (PSA, INSATU)
Luteolin	2.53	286.24	111.13	-3.71	0.00	1	*Medium*	2 (PSA, INSATU)
β-Caryophyllene	4.38	204.35	0.00	-3.87	0.73	0.0	*High*	0
Ursolic acid	7.34	456.70	57.53	-7.23	0.90	1	*Medium*	2 (LIPO, INSOLU)
Chlorogenic acid	-0.42	354.31	164.75	-1.62	0.38	5	*High*	1 (PSA)
Kaempferol	1.90	286.24	111.13	-3.31	0.00	1	*Medium*	2 (PSA, INSATU)
Oleanolic acid	7.49	456.70	57.53	-7.32	0.90	1	*Medium*	2 (LIPO, INSOLU)
Limonene	4.57	136.23	0.00	-3.50	0.60	1	*High*	0
Isovitexin	1.91	452.41	167.31	-3.34	0.28	3	*High*	1 (PSA)
Linalool	2.97	154.25	20.23	-2.48	0.30	4	*High*	0
Geraniol	3.32	154.25	20.23	-3.11	0.30	4	*High*	0
Betulinic acid	6.54	439.72	37.30	-7.11	0.78	2	Medium	2 (LIPO, INSOLU)
Alpha-pinene	4.15	136.23	0.00	-3.51	0.60	0	High	0

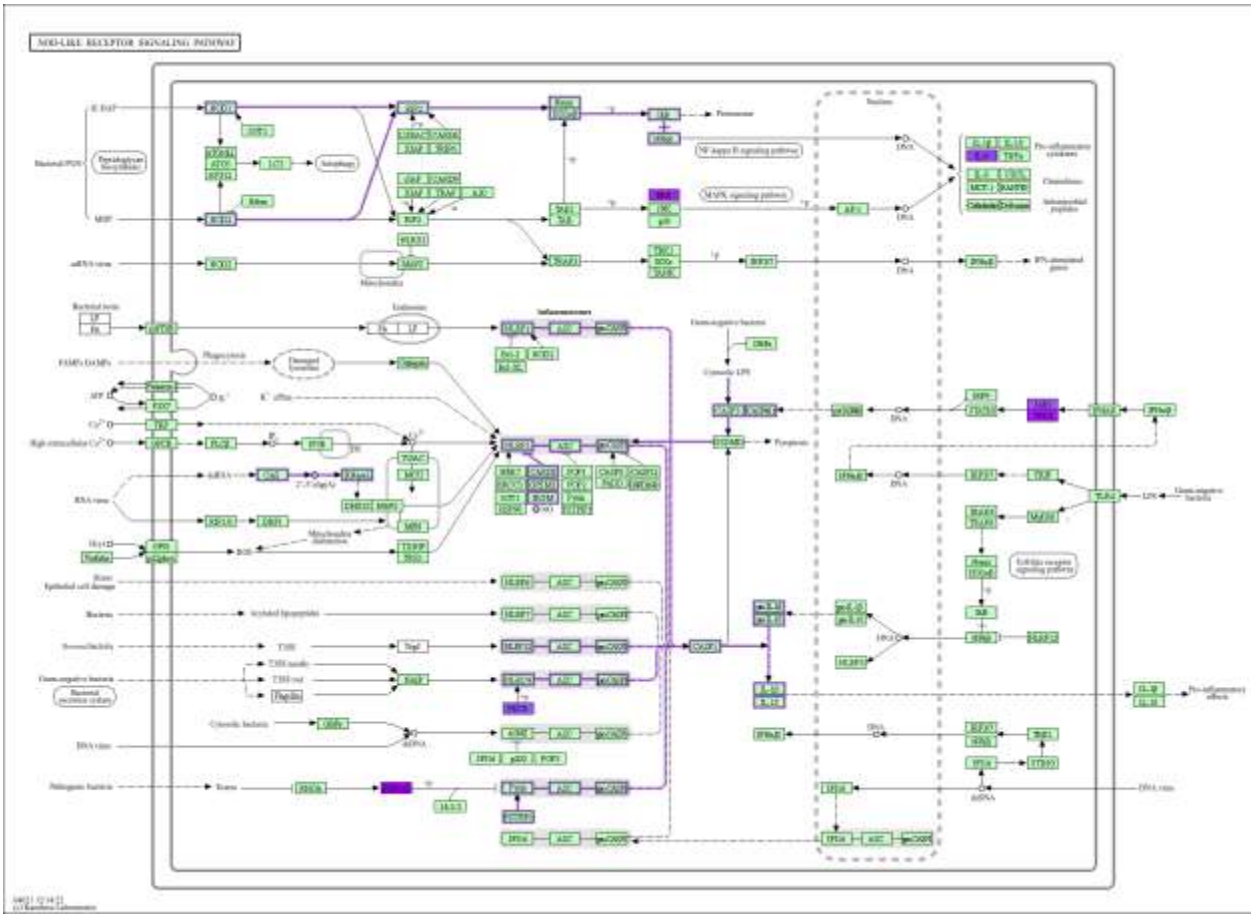
Hasil berikutnya menampilkan hubungan antara protein target dan senyawa bioaktif yang diprediksi akan berinteraksi dalam penelitian ini. Untuk melihat rincian lengkapnya, dapat merujuk pada Tabel 2.

Tabel 2. Senyawa bioaktif yang terlibat dalam interaksi dengan protein target

Protein Target	Senyawa Bioaktif
*Serine/threonine-protein kinase N1 (*PKN1*)*	*Quercetin, Kaempferol*
*Tyrosine-protein kinase (*JAK1*)*	*Geraniol*
*Non-receptor tyrosine-protein kinase (*TYK2*)*	*Geraniol*
*Protein kinase C delta type regulatory subunit (*PRKCD*)*	*Chlorogenic acid, Geraniol*
*Mitogen-activated protein kinase 3 (*MAPK3*)*	*Ursolic acid, Oleanolic acid, Linalool, Geraniol, Betulinic acid*
*Interleukin-6 (*IL-6*)*	*Asiatic acid*

Jalur *NOD-like receptor* (NLR) pada penelitian ini menunjukkan keterlibatan enam protein target utama, yaitu PKN1, JAK1, TYK2, PRKCD, MAPK3, dan IL-6, yang berperan dalam regulasi transduksi sinyal inflamasi. Keberadaan protein-protein pada Gambar 1 mencerminkan bahwa modulasi jalur NLR tidak hanya terjadi pada tahap inisiasi, tetapi juga pada tahap amplifikasi dan tahap respons efektor imun. Aktivasi NLR diketahui berkontribusi terhadap proses neuroinflamasi melalui induksi faktor transkripsi seperti NF-κB serta produksi sitokin proinflamasi, termasuk IL-6 dan TNF-α (Zhong *et al*., 2018). Kondisi

ini memiliki keterkaitan erat dengan patogenesis *multiple sclerosis*, di mana inflamasi kronis pada sistem saraf pusat menyebabkan demielinisasi dan kerusakan neuron (Filippi *et al*., 2018). Selain itu, aktivasi *inflammasome* dan jalur terkait NLR dilaporkan memperburuk progresivitas penyakit melalui peningkatan respons imun adaptif yang tidak terkontrol (Voet *et al*., 2019). Protein target tersebut berpotensi dimodulasi oleh senyawa bioaktif sebagai strategi terapi pada *multiple sclerosis*.



Gambar 1. *NOD-like receptor signaling pathway.* Warna ungu adalah protein target yang dapat berinteraksi dengan senyawa antiinflamasi dari *Centella asiatica*.

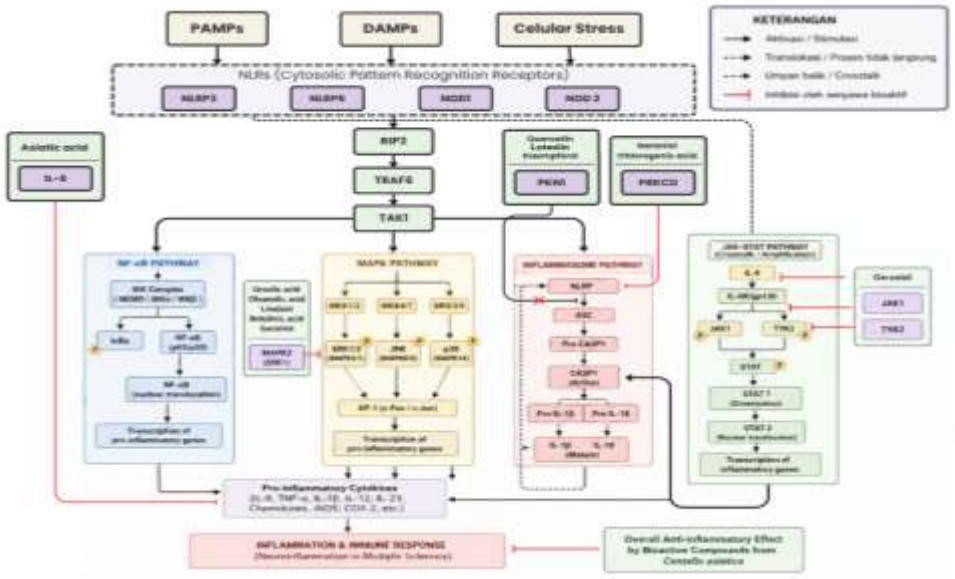
PAMPs (*Pathogen-associated molecular patterns*) dan DAMPs (*Damage-associated molecular patterns*) berperan sebagai sinyal awal dalam sistem imun bawaan yang memicu respons inflamasi pada multiple sclerosis. PAMPs berasal dari komponen mikroorganisme, sedangkan DAMPs dilepaskan dari sel yang mengalami kerusakan jaringan, sehingga keduanya dikenali oleh *pattern recognition receptors* seperti *NOD-like receptors* (NLRs) (Kim *et al*., 2016; Danis & Mellett, 2021). Aktivasi sinyal ini menjadi relevan pada *multiple sclerosis* karena kerusakan jaringan saraf pusat akan meningkatkan pelepasan DAMPs yang kemudian mengaktifkan reseptor NLR seperti NLRP3 dan NOD2 (Chen *et al*., 2021; Voet *et al*., 2019). Interaksi antara PAMPs/DAMPs dan NLRs membentuk kompleks awal yang memicu respons inflamasi intraseluler.

Proses transduksi sinyal dimulai setelah terbentuknya kompleks antara PAMPs/DAMPs dan reseptor NLRs, yang kemudian merekrut adaptor utama seperti RIP2 (RIPK2) untuk mentransmisikan sinyal ke jalur *downstream* (Kim *et al*., 2016; Chen *et al*., 2021). Aktivasi RIP2 selanjutnya menginduksi rekrutmen protein seperti TRAF6 dan TAK1 yang berfungsi sebagai penghubung menuju aktivasi jalur inflamasi (Danis & Mellett, 2021). Rangkaian fosforilasi protein kinase yang terjadi pada tahap ini memperkuat sinyal dan mengarahkan sel untuk mengaktifkan berbagai jalur transduksi yang kompleks dan saling terintegrasi.

Jalur yang diinduksi setelah aktivasi tersebut meliputi jalur NF-κB, MAPK, serta pembentukan *inflammasome* seperti NLRP3 (Babamale & Chen, 2021; Chen *et al*., 2021). Jalur NF-κB berperan dalam menginisiasi respons inflamasi melalui aktivasi gen proinflamasi, sedangkan jalur MAPK mengaktifkan protein seperti MAPK3 yang kemudian memicu faktor AP-1 (Kim *et al*., 2016). Selain itu, *inflammasome* NLRP3 mengaktifkan caspase-1 yang berperan dalam pematangan sitokin IL-1β dan IL-18 sebagai mediator inflamasi (Swanson et al., 2019). Aktivasi jalur-jalur tersebut menunjukkan bahwa NLR berfungsi sebagai pusat integrasi sinyal inflamasi di dalam sel.

Faktor transkripsi seperti NF-κB, AP-1, dan STAT berperan utama dalam mengatur ekspresi gen sitokin proinflamasi setelah jalur tersebut diaktifkan. NF-κB menginduksi ekspresi gen seperti IL-6 dan TNF-α, sedangkan AP-1 berkontribusi pada regulasi gen yang terkait dengan respons stres dan inflamasi seluler (Babamale & Chen, 2021; Kim *et al*., 2016). Aktivasi jalur JAK-STAT yang dipicu oleh sitokin seperti IL-6 akan mengaktifkan STAT sebagai faktor transkripsi yang memperkuat ekspresi gen inflamasi secara berkelanjutan (Chen *et al*., 2021). Dengan demikian, faktor transkripsi berfungsi sebagai penghubung antara sinyal intraseluler dan perubahan ekspresi gen yang mengarah pada respons inflamasi.

Produksi sitokin proinflamasi yang berlebihan memiliki hubungan erat dengan patogenesis *multiple sclerosis*, terutama dalam memperburuk proses demielinisasi dan kerusakan neuron. Aktivasi NLR dan *inflammasome* seperti NLRP3 telah dikaitkan dengan peningkatan respons inflamasi pada pasien *multiple sclerosis*, termasuk peningkatan ekspresi IL-1β dan IL-6 (Voet *et al*., 2019; Chen *et al*., 2021). Sitokin tersebut meningkatkan permeabilitas sawar darah otak serta memicu infiltrasi sel imun ke dalam sistem saraf pusat, sehingga memperparah inflamasi kronis (Filippi et al., 2018). Kondisi ini berkontribusi terhadap progresivitas penyakit dan gangguan neurologis yang menjadi ciri khas *multiple sclerosis*.



Gambar 2. *Framework* interaksi senyawa antiinflamasi dari *Centella asiatica d*engan protein target

Hasil selanjutnya menunjukkan nilai *binding affinity* antara makromolekul dan ligan pada jalur *NOD-like receptor* yang digunakan untuk menggambarkan kekuatan interaksi serta potensi kestabilan kompleks yang terbentuk. Untuk melihat hasil selengkapnya, dapat merujuk pada Tabel 3. Peran senyawa bioaktif terhadap protein target dalam jalur NOD-like receptor menunjukkan mekanisme modulasi yang spesifik pada setiap titik regulasi inflamasi.

Tabel 3. Nilai *binding affinity* dari setiap pasangan ligan dan reseptor

Protein Target	ligan	*Binding Affinity*
*Mitogen-activated protein kinase 3 (*MAPK3*)*	*Oleanolic acid*	-8.8
	Ursolic acid	-8.7
	Betulinic acid	-8.6
	Geraniol	-5.0
	Linalool	-4.6
*Interleukin-6 (*IL-6*)*	*Asiatic acid*	-7.1
*Serine/threonine-protein kinase N1 (*PKN1*)*	*Quercetin*	-6.3
	Luteolin	-6.3
	Kaempferol	-5.8
*Protein kinase C delta type regulatory subunit (*PRKCD*)*	*Chlorogenic acid*	-6.2
	Geraniol	-4.9
*Non-receptor tyrosine-protein kinase (*TYK2*)*	*Geraniol*	-4.9
*Tyrosine-protein kinase (*JAK1*)*	*Geraniol*	-4.8

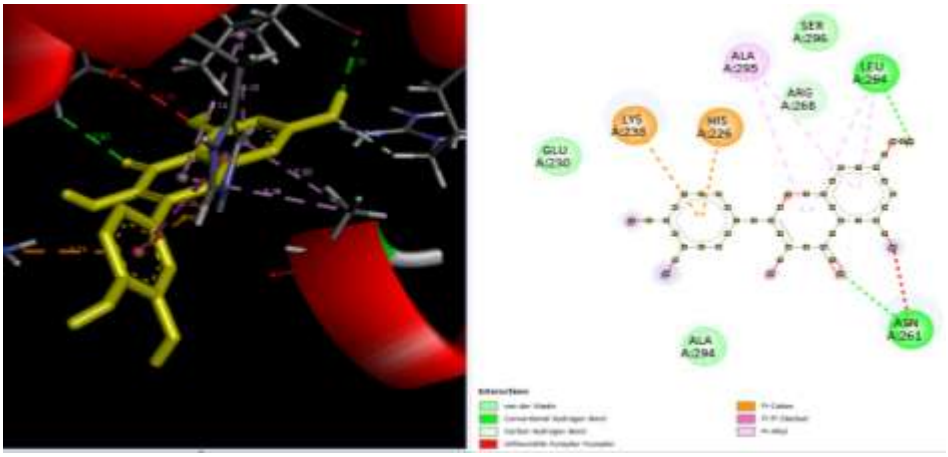


Gambar 3 Visualisasi 3D antara *geraniol* dan protein JAK1

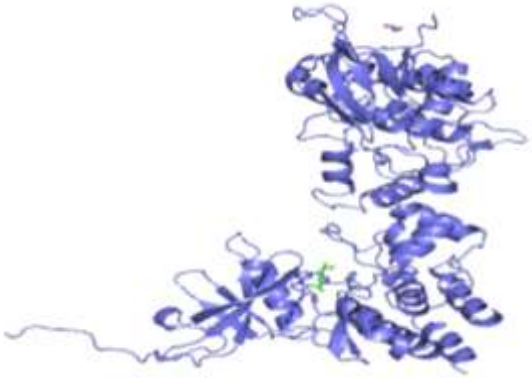
Interaksi antara *quercetin*, *luteolin* dan *kaempferol* dengan protein PKN1 berpotensi mengubah aktivitas kinase tersebut sehingga menurunkan kemampuannya dalam memfosforilasi substrat hilir seperti *Pyrin*. Secara normal, PKN1 akan memfosforilasi *Pyrin* sehingga mempertahankan kondisi inaktif inflammasome dan mencegah pembentukan kompleks ASC (Xu *et al*., 2014; Man *et al*., 2017). Penghambatan aktivitas PKN1 oleh senyawa bioaktif diduga terjadi melalui kompetisi pada situs *ATP-binding kinase*, sehingga menurunkan aktivitas katalitiknya dan memungkinkan *Pyrin* berada dalam bentuk aktif yang mendukung pembentukan *inflammasome* (Gao *et al*., 2018). Mekanisme ini menunjukkan bahwa modulasi PKN1 dapat memengaruhi regulasi inflamasi melalui kontrol yang kompleks oleh ASC.

Quercetin menunjukkan afinitas pengikatan sebesar −6,3 kcal/mol terhadap PKN1 dan membentuk pola interaksi yang paling beragam dibandingkan dengan ligan lainnya. Molekul ini berikatan melalui dua ikatan hidrogen konvensional dengan residu LEU A:264 dan ASN A:261 pada jarak 2,31 Å dan 2,95 Å, satu interaksi *Pi-Cation* dengan LYS A:233 dan HIS A:226 pada jarak 3,75 Å, beberapa interaksi Pi-Pi Stacked serta *Pi-Alkyl* dengan residu ALA A:295 dan ARG A:268 pada rentang jarak 4,39–5,36 Å, serta dua interaksi *Unfavorable Acceptor-Acceptor* pada jarak 2,42 Å dan 3,50 Å. Jarak ikatan hidrogen sebesar 2,31 Å menunjukkan interaksi yang sangat kuat karena berada dalam rentang pengikatan yang mampu meningkatkan kestabilan kompleks secara signifikan (Pagadala et al., 2017). Interaksi *Pi-Cation* dan *Pi-Pi stacked* juga diketahui memberikan kontribusi besar terhadap kestabilan konformasi senyawa aromatik selama berada di dalam kantong aktif protein (Pantsar & Poso, 2018). Meskipun terdapat interaksi yang tidak menguntungkan berupa *Unfavorable Acceptor-Acceptor*, jumlah dan variasi interaksi yang terbentuk menghasilkan stabilitas kompleks yang baik hingga sangat baik. Kemampuan quercetin dalam menghambat PKN1 berpotensi memberikan efek imunomodulator pada *multiple sclerosis* karena PKN1 berhubungan

dengan regulasi sinyal inflamasi dan aktivitas inflammasom yang terlibat dalam respons imun patologis (Swanson *et al*., 2019; Voet *et al*., 2019).



Gambar 4. Jarak ikatan dalam bentuk 3D dan interaksi *quercetin* terhadap protein PKN1 dalam bentuk 2D



Gambar 5 Visualisasi 3D antara *geraniol* dan protein JAK1

Peran *geraniol* terhadap protein JAK1 menunjukkan mekanisme penghambatan pada jalur JAK-STAT yang berperan dalam amplifikasi sinyal inflamasi. JAK1 merupakan tirosin kinase yang mengaktifkan STAT melalui proses fosforilasi setelah berikatan dengan reseptor sitokin seperti IL-6 (O'Shea *et al*., 2015; Banerjee *et al*., 2017). Senyawa *geraniol* diperkirakan menghambat aktivitas JAK1 melalui interaksi pada domain katalitik kinase, sehingga menghambat transfer gugus fosfat ke STAT dan mencegah aktivasi faktor transkripsi tersebut. Penghambatan ini akan menurunkan ekspresi gen inflamasi yang dikendalikan oleh STAT, sehingga berkontribusi dalam menekan respons inflamasi yang berlebihan (Morris *et al*., 2018).

Interaksi *geraniol* terhadap JAK1 menghasilkan nilai *binding affinity* sebesar −4,8 kcal/mol dan merupakan nilai afinitas terendah dalam penelitian ini. Kompleks tersebut membentuk ikatan hidrogen konvensional dengan residu ARG A:1007 dan ASP A:1003 pada jarak 2,58 Å, interaksi *alkyl* dengan residu LKT A:1201 pada jarak 4,01–4,57 Å, serta interaksi *Pi-Alkyl* dengan residu LYS A:965 pada jarak 4,78 Å. Jarak ikatan hidrogen sebesar 2,58 Å masih menunjukkan interaksi yang kuat karena berada dalam rentang pengikatan optimal untuk menjaga kontak antara ligan dan protein target (Pagadala et al., 2017). Jumlah interaksi yang lebih sedikit dibandingkan dengan kompleks lain menjelaskan mengapa nilai binding affinity geraniol terhadap JAK1 relatif lebih rendah. Stabilitas kompleks dapat dikategorikan sebagai sedang karena masih didukung oleh kombinasi ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik yang menjaga keberadaan ligan pada kantong aktif protein (Pantsar & Poso, 2018). Aktivitas penghambatan terhadap JAK1 tetap memiliki

nilai terapeutik yang penting karena jalur JAK/STAT berperan dalam aktivasi limfosit autoreaktif dan produksi sitokin inflamasi yang berkontribusi terhadap perkembangan *multiple sclerosis* (Filippi *et al*., 2018; Nociti & Romozzi, 2023).



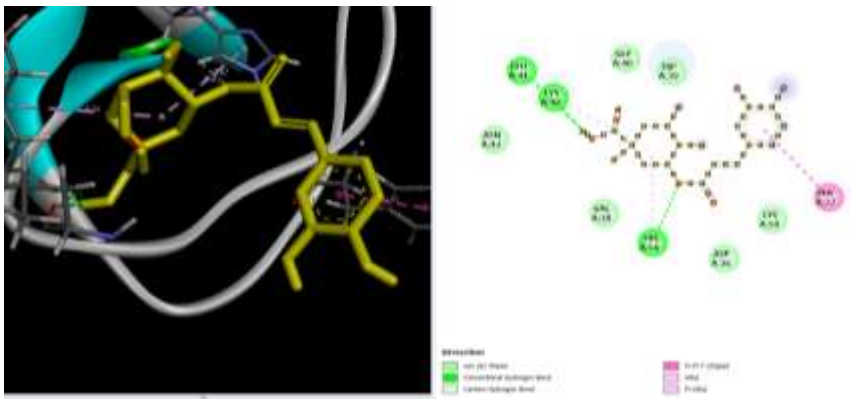
Gambar 6 Visualisasi 3D antara *geraniol* dan protein TYK2

Geraniol juga menargetkan TYK2 yang merupakan anggota keluarga JAK dan berperan dalam transduksi sinyal sitokin proinflamasi. TYK2 berfungsi dalam mengaktifkan STAT melalui mekanisme yang serupa dengan JAK1, terutama dalam respons terhadap interferon dan interleukin (O'Shea *et al*., 2015). Penghambatan TYK2 oleh geraniol diduga terjadi melalui pengikatan pada domain pengikatan ATP, sehingga menghambat aktivitas fosforilasi dan mengurangi aktivasi jalur STAT (Banerjee *et al*., 2017). Inhibisi TYK2 akan menekan amplifikasi sinyal inflamasi yang berperan dalam progresivitas penyakit autoimun seperti multiple sclerosis. Geraniol yang berikatan dengan TYK2 menghasilkan nilai afinitas ikatan sebesar −4,9 kcal/mol. Meskipun nilai tersebut lebih rendah dibandingkan dengan ligan lainnya, kompleks masih memperlihatkan pola interaksi yang cukup stabil melalui satu ikatan hidrogen konvensional dengan residu GLY A:811 pada jarak 2,22 Å, satu interaksi Pi-Sigma dengan residu TRP A:778 pada jarak 4,36 Å, serta beberapa interaksi Alkyl dan Pi-Alkyl dengan residu CYS A:736, ARG A:775, dan ARG A:738 pada rentang jarak 4,06–5,19 Å. Jarak ikatan hidrogen sebesar 2,22 Å mengindikasikan interaksi yang sangat kuat karena memungkinkan terjadinya kontak langsung yang efektif antara gugus hidroksil geraniol dan residu protein target (Pagadala *et al*., 2017).



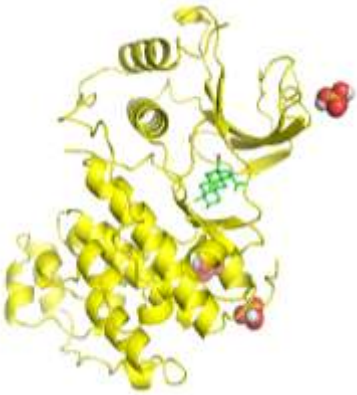
Gambar 7 Visualisasi 3D antara *Chlorogenic Acid* dan protein PRKCD

Interaksi antara *chlorogenic acid* dan *geraniol* dengan protein PRKCD menunjukkan mekanisme penghambatan terhadap proses aktivasi *inflammasome*, khususnya melalui interaksi dengan NLRC4. PRKCD diketahui berperan dalam fosforilasi komponen *inflammasome* yang diperlukan untuk stabilisasi kompleks NLRC4 (Qu *et al*., 2012; Zhao *et al*., 2021). Senyawa bioaktif tersebut diduga menghambat PRKCD dengan mengganggu aktivitas kinase atau menghambat interaksi protein–protein antara PRKCD dan NLRC4. Penghambatan ini menyebabkan penurunan kemampuan NLRC4 dalam membentuk kompleks inflammasome yang stabil, sehingga mengurangi aktivasi caspase-1 dan produksi sitokin proinflamasi.



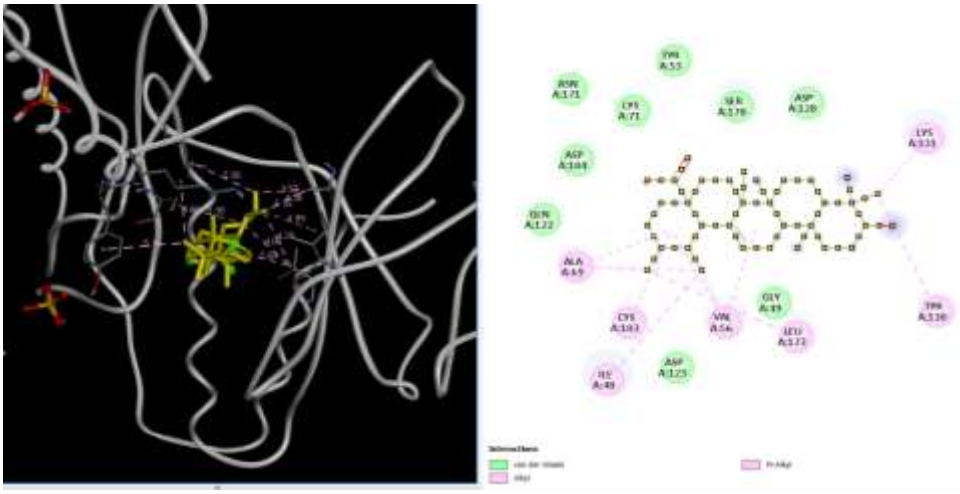
Gambar 8. Jarak ikatan dalam bentuk 3D dan interaksi antara *Chlorogenic Acid* dan protein PRKCD dalam bentuk 2D

Chlorogenic acid berinteraksi dengan PRKCD dengan nilai afinitas ikatan sebesar −6,2 kcal/mol. Kompleks ini membentuk ikatan hidrogen konvensional dengan residu LYS A:43 dan HIS A:56 pada jarak 2,67 Å, interaksi Pi-Pi berbentuk T dengan residu PHE A:37 pada jarak 5,34 Å, serta interaksi *Alkyl* dan *Pi-Alkyl* dengan residu LYS A:58 pada jarak 4,92–5,40 Å. Jarak ikatan hidrogen yang berada di bawah 3 Å menunjukkan bahwa *chlorogenic acid* mampu berinteraksi secara kuat dengan residu penting pada kantong aktif protein (Pagadala *et al*., 2017). Penghambatan PRKCD relevan terhadap terapi *multiple sclerosis* karena protein ini berperan dalam regulasi aktivasi sel imun dan jalur inflamasi yang berkaitan dengan neuroinflamasi kronis (Voet *et al*., 2019; Nociti & Romozzi, 2023).



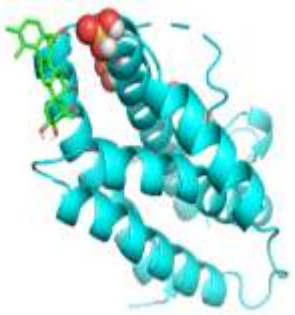
Gambar 9 Visualisasi 3D antara *Betulinic Acid* dan protein MAPK3

Berbagai senyawa seperti *ursolic acid, oleanolic acid, linalool, geraniol,* dan *betulinic acid* berperan dalam menghambat MAPK3, yang merupakan bagian dari jalur MAPK. MAPK3 berfungsi dalam mentransduksi sinyal menuju aktivasi faktor transkripsi AP-1 melalui proses fosforilasi (Arthur & Ley, 2013; Kim & Choi, 2015). Senyawa bioaktif tersebut diperkirakan bekerja dengan menghambat aktivitas kinase MAPK3 melalui kompetisi pada situs aktif atau perubahan konformasi protein, sehingga mengurangi fosforilasi target hilir. Akibatnya, aktivasi AP-1 akan menurun dan ekspresi gen inflamasi akan terhambat.



Gambar 10. Jarak ikatan dalam bentuk 3D dan interaksi antara *Oleanolic Acid* dengan protein MAPK3 dalam bentuk 2D

Kompleks *oleanolic acid* dengan MAPK3 menunjukkan nilai afinitas ikatan sebesar −8,8 kcal/mol, yang merupakan nilai afinitas tertinggi di antara seluruh pasangan protein-ligan yang dianalisis. Nilai tersebut mengindikasikan pembentukan kompleks yang stabil karena energi pengikatan yang semakin negatif umumnya berkorelasi dengan peningkatan kestabilan termodinamika protein-ligan (Pantsar & Poso, 2018). *Oleanolic acid* membentuk satu ikatan hidrogen konvensional dengan residu ASP A:184 pada jarak 1,93 Å serta membangun sembilan interaksi hidrofobik berupa *Alkyl* dan *Pi-Alkyl* dengan residu TYR A:130, LYS A:131, VAL A:56, CYS A:183, ALA A:69, LEU A:173, TYR A:53, dan LYS A:71 pada rentang jarak 4,15–6,33 Å. Jarak ikatan hidrogen yang sangat pendek menunjukkan terjadinya interaksi yang sangat kuat karena memungkinkan terjadinya kontak molekuler yang lebih efektif antara gugus aktif ligan dan residu pada kantong pengikatan protein (Pagadala *et al*., 2017). Karakteristik tersebut menunjukkan bahwa *oleanolic acid* memiliki kecocokan yang sangat tinggi terhadap MAPK3 sehingga berpotensi menghambat jalur ERK/MAPK yang diketahui berkontribusi terhadap aktivasi mikroglia, pelepasan sitokin proinflamasi, dan perkembangan neuroinflamasi pada multiple sclerosis (ten Bosch *et al*., 2021; Charabati *et al*., 2023).

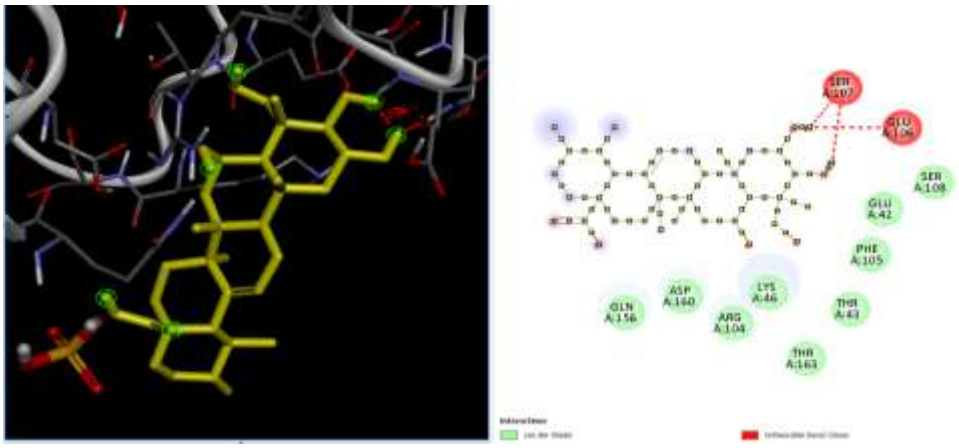


Gambar 11 Visualisasi 3D antara *Asiatic Acid* dan protein IL-6

Ursolic acid (pose pertama dan kedua) serta *betulinic acid* menunjukkan potensi yang kuat sebagai kandidat modulator MAPK3 untuk menekan proses neuroinflamasi pada patogenesis *multiple sclerosis*, yang dibuktikan oleh tingginya nilai afinitas ikatan (*binding affinity*) masing-masing sebesar −8,7 kcal/mol, −8,5 kcal/mol, dan −8,6 kcal/mol. Pada pose pertama, stabilitas kompleks ursolic acid didominasi oleh sembilan interaksi hidrofobik (*Alkyl* dan *Pi-Alkyl*) dengan residu ALA A:69, CYS A:183, ILE A:48, VAL A:56, LEU A:173, LYS A:131, dan TYR A:130 (jarak 3,62–5,36 Å), tanpa ikatan hidrogen konvensional, yang mengindikasikan bahwa kestabilannya lebih ditentukan oleh kesesuaian bentuk molekul triterpenoid

terhadap saku pengikatan MAPK3. Sebaliknya, pose kedua *ursolic acid* menghasilkan ikatan hidrogen konvensional yang kuat dengan residu LYS A:131 dan MET A:125 pada jarak ideal 2,88 Å, serta dua interaksi alkil dengan residu CYS A:183, ALA A:69, LEU A:173, dan LEU A:124 (jarak 4,78–4,80 Å), yang memberikan spesifisitas pengikatan lebih tinggi meskipun jumlah interaksinya lebih sedikit. *Betulinic acid* mengombinasikan kedua jenis interaksi tersebut melalui satu ikatan hidrogen konvensional dengan residu GLN A:122 sebagai penentu orientasi ligan, serta delapan interaksi *Alkyl* dengan residu VAL A:56, LEU A:124, LEU A:173, CYS A:183, dan ALA A:69 pada rentang jarak yang relatif seragam (4,02–5,00 Å).

Asiatic acid menunjukkan peran dalam menurunkan aktivitas IL-6, sitokin proinflamasi utama dalam jalur NLR dan JAK-STAT. IL-6 berperan dalam memperkuat respons inflamasi melalui aktivasi reseptor sitokin dan jalur JAK-STAT (Tanaka *et al*., 2014; Hunter & Jones, 2015). Senyawa ini diduga bekerja dengan menurunkan ekspresi atau sekresi IL-6 melalui penghambatan jalur *upstream* seperti NF-κB, sehingga mengurangi sinyal inflamasi yang berkelanjutan. Penurunan kadar IL-6 akan berdampak langsung pada penurunan aktivasi JAK1 dan TYK2, sehingga menghambat amplifikasi respons inflamasi.



Gambar 12 Jarak ikatan dalam bentuk 3D dan interaksi antara *Asiatic Acid* dan protein IL-6 dalam bentuk 2D

Kompleks *asiatic acid* dengan IL-6 menghasilkan nilai binding affinity sebesar −7,1 kcal/mol yang menunjukkan kemampuan pengikatan yang masih tergolong baik meskipun lebih rendah dibandingkan dengan kelompok triterpenoid yang berinteraksi dengan MAPK3. Asiatic acid teridentifikasi berinteraksi dengan residu SER A:107 dan GLU A:106 melalui interaksi Unfavorable Donor-Donor serta sejumlah interaksi van der Waals pada residu di sekitar kantong pengikatan. Kehadiran interaksi *unfavorable* donor-donor menunjukkan adanya tolakan elektrostatik lokal akibat kedekatan dua gugus donor proton yang dapat menurunkan efisiensi pengikatan ligan terhadap protein (Pantsar & Poso, 2018). Stabilitas kompleks tetap dapat dipertahankan karena kerangka pentasiklik asiatic acid mampu membentuk kontak hidrofobik dengan residu di sekitar situs pengikatan melalui gaya van der Waals yang bekerja secara kolektif (Pagadala *et al*., 2017). Potensi asiatic acid sebagai kandidat terapi multiple sclerosis tetap menarik untuk dikaji karena penurunan aktivitas IL-6 diketahui dapat menghambat diferensiasi sel T helper 17 (Th17) dan mengurangi produksi sitokin proinflamasi yang berperan penting dalam proses demielinisasi pada sistem saraf pusat (Filippi *et al*., 2018; Voet *et al.*, 2019).

Analisis karakteristik farmakokinetik pada Tabel 2 berdasarkan parameter *Blood-Brain Barrier* (BBB) menunjukkan adanya variasi kemampuan penetrasi ke sistem saraf pusat pada senyawa aktif *Centella asiatica*. Senyawa *β-caryophyllene, limonene, linalool, geraniol, chlorogenic acid,* dan *isovitexin* termasuk dalam kategori *high* karena memiliki profil fisikokimia yang lebih mendukung proses permeasi BBB. *Asiatic acid, madecassic acid, quercetin, luteolin, kaempferol, ursolic acid, oleanolic acid,* dan *betulinic acid* berada pada kategori *medium* karena masih memiliki 1 hingga 3 parameter yang berada di luar rentang ideal. Tidak ditemukannya nilai eksklusi pada *β-caryophyllene, limonene, linalool,* dan

geraniol menunjukkan peluang yang lebih besar bagi senyawa tersebut untuk mencapai jaringan otak melalui mekanisme difusi pasif (Daina *et al*., 2017). Karakteristik tersebut didukung oleh ukuran molekul yang relatif kecil, luas permukaan polar yang rendah, serta tingkat fleksibilitas molekul yang dapat meningkatkan peluang molekul untuk menembus BBB (Pajouhesh & Lenz, 2020; Pardridge, 2022).

Hasil molecular docking menunjukkan bahwa kemampuan penetrasi BBB tidak selalu berbanding lurus dengan kekuatan afinitas terhadap protein target. *Geraniol* yang termasuk dalam kategori *high* hanya menghasilkan nilai *binding affinity* yang berkisar antara −4,8 hingga −5,0 kcal/mol terhadap MAPK3, PRKCD, TYK2, dan JAK1. *Oleanolic acid, ursolic acid,* dan *betulonic acid* yang berada pada kategori *medium* justru menunjukkan afinitas pengikatan tertinggi terhadap MAPK3, dengan nilai masing-masing sebesar −8,8; −8,7; dan −8,6 kcal/mol. Temuan tersebut mengindikasikan bahwa kemampuan suatu senyawa untuk mencapai sistem saraf pusat tidak selalu menentukan kekuatan interaksinya dengan protein target yang terlibat dalam jalur neuroinflamasi (Pantsar & Poso, 2018; Nociti & Romozzi, 2023).

Perbandingan antara prediksi permeabilitas BBB dan hasil *molecular docking* memberikan gambaran yang lebih komprehensif mengenai prospek pengembangan senyawa sebagai kandidat terapi *multiple sclerosis.* Kelompok triterpenoid yang terdiri atas *oleanolic acid, ursolic acid,* dan *betulonic acid* menunjukkan afinitas pengikatan tertinggi terhadap MAPK3 dengan nilai *binding affinity* masing-masing sebesar −8,8; −8,7; dan −8,6 kcal/mol. Nilai tersebut menunjukkan interaksi yang sangat kuat karena energi pengikatan yang semakin negatif mencerminkan terbentuknya kompleks protein-ligan yang lebih stabil secara termodinamika (Pantsar & Poso, 2018). Meskipun ketiga senyawa tersebut hanya memiliki kategori BBB tingkat menengah akibat parameter lipofilisitas dan kelarutan yang kurang optimal, kemampuan pengikatannya terhadap MAPK3 jauh lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa lain yang diuji. *Quercetin* dan *chlorogenic acid* juga menunjukkan afinitas yang cukup baik terhadap PKN1 dan PRKCD, dengan nilai afinitas ikatan masing-masing sebesar −6,3 dan −6,2 kcal/mol. Berdasarkan rentang nilai tersebut, kedua senyawa dapat dikategorikan memiliki kekuatan interaksi sedang hingga kuat sehingga masih berpotensi menghasilkan efek biologis yang relevan terhadap target inflamasi.

Karakteristik yang berbeda ditunjukkan oleh *geraniol* karena senyawa ini memiliki profil BBB terbaik tanpa eksklusi, tetapi hanya menghasilkan nilai *binding affinity* yang berkisar antara −4,8 hingga −5,0 kcal/mol terhadap beberapa protein target. Rentang nilai tersebut menunjukkan kekuatan interaksi yang relatif lebih rendah dibandingkan dengan kelompok triterpenoid, sehingga stabilitas kompleks protein-ligan yang terbentuk diperkirakan berada pada kategori sedang (Pantsar & Poso, 2018). Hasil tersebut menunjukkan bahwa *oleanolic acid, ursolic acid,* dan *betulinic acid* lebih unggul dari sisi kekuatan pengikatan terhadap target neuroinflamasi, sedangkan *geraniol* lebih unggul dari sisi kemampuannya untuk mencapai jaringan otak. Integrasi parameter farmakokinetik dan farmakodinamik mengindikasikan bahwa kandidat terapi *multiple sclerosis* yang paling prospektif adalah senyawa yang mampu mempertahankan keseimbangan antara permeabilitas BBB dan afinitas pengikatan yang tinggi terhadap protein target yang berperan dalam proses inflamasi pada sistem saraf pusat (Filippi *et al*., 2018; Nociti & Romozzi, 2023; Pardridge, 2022).

SIMPULAN

Analisis *in silico* menunjukkan bahwa senyawa aktif *Centella asiatica* berpotensi memodulasi beberapa protein kunci pada jalur *NOD-like receptor* (NLR) yang berperan dalam patogenesis *multiple sclerosis. Oleanolic acid, ursolic acid,* dan *betulinic acid* menunjukkan afinitas pengikatan tertinggi terhadap MAPK3 dengan nilai *binding affinity* masing-masing sebesar −8,8; −8,7; dan −8,6 kcal/mol, sementara *asiatic acid* berinteraksi baik dengan IL-6 (−7,1 kcal/mol), *quercetin* dengan PKN1 (−6,3 kcal/mol), dan *chlorogenic acid* dengan PRKCD (−6,2 kcal/mol). Kompleks MAPK3–*oleanolic acid* menghasilkan interaksi paling stabil melalui ikatan hidrogen kuat pada residu ASP 184 dengan jarak 1,93 Å yang didukung oleh sejumlah interaksi hidrofobik, sehingga menunjukkan potensi penghambatan yang lebih tinggi dibandingkan dengan pasangan protein-ligan lainnya. *Geraniol* memperlihatkan karakteristik unik karena mampu berinteraksi dengan empat target sekaligus, yaitu MAPK3, PRKCD, TYK2, dan JAK1, meskipun memiliki afinitas yang lebih rendah (−4,8 hingga −5,0 kcal/mol), serta menunjukkan profil permeabilitas *Blood–Brain Barrier* (BBB) yang lebih baik. Temuan ini mengindikasikan adanya dua

kelompok kandidat yang saling melengkapi, yaitu triterpenoid sebagai penghambat kuat jalur MAPK3 dan *geraniol* sebagai senyawa multitarget dengan potensi distribusi ke sistem saraf pusat yang lebih tinggi, sehingga memperkuat prospek *Centella asiatica* sebagai sumber agen terapeutik berbasis multitarget untuk menekan neuroinflamasi pada *multiple sclerosis*.

DAFTAR PUSTAKA

Babamale, A. O., & Chen, S. T. (2021). Nod-like receptors: Critical intracellular sensors for host protection and cell death in microbial and parasitic infections. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(21), 11398. https://doi.org/10.3390/ijms222111398.

Charabati, M., Grasmuck, C., Ghannam, S., Bourbonnière, L., Fournier, A. P., Lécuyer, M. A., Prat, A. (2023). DICAM promotes TH17 lymphocyte trafficking across the blood–brain barrier during autoimmune neuroinflammation. *Cell*, 186(8), 1651–1668.e20. https://doi.org/10.1016/j.cell.2023.03.008.

Chen, L., Cao, S. Q., Lin, Z. M., He, S. J., & Zuo, J. P. (2021). NOD-like receptors in autoimmune diseases. *Acta Pharmacologica Sinica*, 42(11), 1742–1756. https://doi.org/10.1038/s41401-020-00603-2.

Cheong, W.L., Mohan, D., Warren, N., Reidpath, D.D. (2018). Multiple sclerosis in the Asia Pacific region: A systematic review. *Frontiers in Neurology*. https://doi.org/10.3389/fneur.2018.00432.

Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017). SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*, 7(1), 42717. https://doi.org/10.1038/srep42717.

Danis, J., & Mellett, M. (2021). Nod-like receptors in host defense and disease at the epidermal barrier. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(9), 4677. https://doi.org/10.3390/ijms22094677.

Eskandarieh, S., Heydarpour, P., Minagar, A., Pourmand, S., & Sahraian, M. A. (2016). Multiple Sclerosis Epidemiology in East Asia, South East Asia and South Asia: A Systematic Review. *Neuroepidemiology*, 46(3), 209–221. https://doi.org/10.1159/000444019

Farzaei, M. H., Shahpiri, Z., Bahramsoltani, R., Nia, M. M., Najafi, F., & Rahimi, R. (2017). Efficacy and Tolerability of Phytomedicines in Multiple Sclerosis Patients: A Review. *CNS drugs*, *31*(10), 867–889. https://doi.org/10.1007/s40263-017-0466-4

Filippi, M., Bar-Or, A., Piehl, F., Preziosa, P., Solari, A., Vukusic, S., & Rocca, M. A. (2018). Multiple sclerosis. *Nature Reviews Disease Primers*, 4(1), 43. https://doi.org/10.1038/s41572-018-0041-4.

Kim, Y. K., Shin, J. S., & Nahm, M. H. (2016). NOD-like receptors in infection, immunity, and diseases. *Yonsei Medical Journal*, 57(1), 5–14. https://doi.org/10.3349/ymj.2016.57.1.5.

Nociti, V., & Romozzi, M. (2023). Emerging molecular targets in multiple sclerosis. *International Journal of Molecular Sciences, 24*(9), 8447. https://doi.org/10.3390/ijms24098447.

Pagadala, N. S., Syed, K., & Tuszynski, J. (2017). Software for molecular docking: A review. *Biophysical Reviews*, 9(2), 91–102. https://doi.org/10.1007/s12551-016-0247-1.

Pajouhesh, H., & Lenz, G. R. (2020). Medicinal chemical properties of successful central nervous system drugs. *NeuroRx, 2*(4), 541–553. https://doi.org/10.1602/neurorx.2.4.541.

Pantsar, T., & Poso, A. (2018). Binding affinity via docking: Fact and fiction. *Molecules*, 23(8), 1899. https://doi.org/10.3390/molecules23081899.

Pardridge, W. M. (2022). Blood–brain barrier and delivery of protein and gene therapeutics to brain. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 14, 878831. https://doi.org/10.3389/fnagi.2022.878831.

Seo, Y., Jin, C., Cho, S. Y., Park, S. U., Jung, W. S., Moon, S. K., Park, J. M., Ko, C. N., Cho, K. H., & Kwon, S. (2021). Current Utilization and Research Status of Traditional East Asian Herbal Medicine Treatment for Multiple Sclerosis: A Scoping Review. *Frontiers in Neurology*, 12, 710769. https://doi.org/10.3389/fneur.2021.710769

Swanson, K. V., Deng, M., & Ting, J. P. Y. (2019). The NLRP3 inflammasome: Molecular activation and regulation. *Nature Reviews Immunology*,19(8),477-489. https://doi.org/10.1038/s41577-019-0165-0.

Ten Bosch, G. J. A., Bolk, J., t Hart, B. A., & Laman, J. D. (2021). Multiple sclerosis is linked to MAPK(ERK) overactivity in microglia. *Journal of Molecular Medicine*, 99(7), 1033–1042. https://doi.org/10.1007/s00109-021-02080-4.

Voet, S., Srinivasan, S., Lamkanfi, M., & Van Loo, G. (2019). Inflammasomes in neuroinflammatory and neurodegenerative diseases. *EMBO Molecular Medicine*, 11(6), e10248. https://doi.org/10.15252/emmm.201810248.

Zhong, Y., Kinio, A., & Saleh, M. (2018). Functions of NOD-like receptors in human diseases. *Frontiers in Immunology*, 9, 541. https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00541.