

## Studi In Silico: Senyawa Aktif Akar Senggugu (*Clerodendrum serratum*) terhadap Penghambatan Reseptor Human Chitotriosidase-1 (hCHIT1) sebagai Antiasma

Herdini<sup>1</sup>, Intan Ririn Setyawati<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup>Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jl. Moh Kahfi II, RT.13/RW.9, Srengseng Sawah, Kec. Jagakarsa, Kota Jakarta Selatan, Daerah Khusus Ibukota Jakarta, Indonesia, 12640

E-mail: [herdinias69@istn.ac.id](mailto:herdinias69@istn.ac.id)

### ABSTRAK

Asma adalah penyakit inflamasi kronik yang biasanya ditandai dengan peradangan saluran napas. Salah satu tumbuhan yang dimanfaatkan sejak dulu untuk mengobati asma adalah akar senggugu (*Clerodendrum serratum*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi senyawa aktif akar senggugu sebagai antiasma yang dilakukan secara *in silico* meliputi prediksi *molecular docking*, sifat fisikokimia, dan prediksi toksisitas. Prediksi *molecular docking* menggunakan PLANTS, sementara sifat fisikokimia dan toksisitas menggunakan laman situs ProTox dan pkCSM. Hasil *molecular docking* menunjukkan senyawa apigenin-7-glukosida,  $\beta$ -Dihidrofukosterol, asam ikosahidropisenat, D-mannitol, dan asam queretaroic memiliki afinitas lebih baik dibandingkan teofilin sebagai senyawa pembanding. Berdasarkan analisis *lipinski's role of five* dari ketujuh senyawa aktif, apigenin-7-glukosida tidak memenuhi syarat *lipinski's role of five* namun masih dapat memenuhi syarat untuk digunakan sebagai senyawa obat baru dengan meningkatkan permeabilitasnya. Senyawa  $\beta$ -Dihidrofukosterol merupakan kandidat yang paling baik, sebab  $\beta$ -Dihidrofukosterol menunjukkan parameter absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi yang baik dan prediksi toksisitas  $\beta$ -Dihidrofukosterol masuk ke dalam kelas IV yang masih lebih aman dibandingkan obat pembanding teofilin.

**Kata Kunci:** asma, *Clerodendrum serratum*, *in silico*, *molecular docking*

### ABSTRACT

Asthma is a chronic inflammatory disease that is usually characterized by airway inflammation. One of the plants that has been used for a long time to treat asthma is the root of *Clerodendrum serratum*. This study aimed to determine the potential of the active compound of senggugu root as an anti-asthma which was carried out *in silico* including prediction of molecular docking, physicochemical properties, and prediction of toxicity. Molecular docking prediction uses PLANTS, while physicochemical properties and toxicity uses the ProTox and pkCSM websites. Molecular docking results showed that the compounds apigenin-7-glucoside,  $\beta$ -Dihydrofucosterol, icosahydric acid, D-mannitol, and queretaroic acid had better affinity than theophylline as the reference compound. Based on lipinski's role of five analysis, from the seven active compounds, there is apigenin-7-glucoside was not meet the requirements for lipinski's role of five but can still qualify for use as new drug compounds by increasing their permeability. The compound  $\beta$ -Dihydrofucosterol is the best candidate, because  $\beta$ -Dihydrofucosterol shows good parameters of absorption, distribution, metabolism and excretion. For prediction of  $\beta$ -Dihydrofucosterol toxicity is in class IV which is still safer than the comparator drug theophylline. The  $\beta$ -Dihydrofucosterol compound is also predicted not to have mutagenic, hepatotoxic, or sensitive effects for the skin.

**Keywords:** asthma, *Clerodendrum serratum*, *in silico*, *molecular docking*

## 1. Pendahuluan

Asma adalah penyakit paru kronis yang ditandai dengan obstruksi jalan napas yang reversibel akibat spasme dan sekret pada bronkus yang biasanya diakibatkan oleh reaksi alergi atau hipersensitivitas dan menyebabkan kesulitan bernapas (Anonim, 2020). Penyakit asma menjadi salah satu masalah kesehatan utama di Indonesia, berdasarkan laporan Riset Kesehatan Dasar Nasional pada tahun 2018, jumlah prevalensi pasien asma di Indonesia mencapai 2,4 % (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2018). Angka kejadian asma sekitar 262 juta orang pada tahun 2019 dan menyebabkan 455.00 kematian di dunia (WHO, 2022). Beberapa faktor risiko yang dapat menyebabkan asma adalah paparan lingkungan seperti alergen termasuk asap rokok atau mikroorganisme tertentu; infeksi virus yang mempengaruhi pernapasan; dan riwayat keluarga (National Heart Lung and Blood Institute, 2022).

Obat-obatan asma diberikan untuk penatalaksanaan penderita asma, umumnya dibagi menjadi dua kategori yaitu pereda asma dan pengontrol asma (Morris, 2022). Sebagian besar obat-obatan asma mempunyai efek samping. Biaya yang dikeluarkan untuk pembelian obat-obatan tersebut pun tidak murah, apalagi untuk pengobatan asma yang bersifat jangka panjang. Dengan demikian, upaya pencarian obat antiasma baru perlu dilakukan. Salah satu sumber obat antiasma adalah tumbuhan obat yang berasal dari alam, yang diharapkan lebih murah dan lebih sedikit efek sampingnya (Moerad et al., 2017). Salah satu tumbuhan obat yang sudah banyak dimanfaatkan sejak dulu oleh masyarakat secara tradisional untuk mengobati asma adalah senggugu.

Tumbuhan senggugu (*C. serratum*) adalah tumbuhan semak berkayu abadi yang berasal dari India Timur dan Malaysia (Patel et al., 2014)). Tanaman senggugu diidentikkan dengan sebuah metode pengobatan tradisional, yaitu gurah. Gurah dipercaya dapat membantu mengobati berbagai penyakit yang terkait

dengan saluran napas, seperti batuk, bronkitis, asma, dan sinusitis (Suryo, 2010). Secara tradisional daun senggugu digunakan untuk mengobati batuk, sementara seduhan akar senggugu biasa digunakan sebagai obat asma, rematik, borok, batuk, cacingan, bronkitis, kolera, sakit mata, demam, malaria, rematik, gigitan ular, maag, dan TBC (Hidayat & Napitupulu, 2015). Akar senggugu mengandung beberapa metabolit sekunder diantaranya, flavonoid, terpenoid, sitosterol, dan karbohidrat (Dongare et al., 2020). Kandungan kimia yang berada pada akar senggugu diantaranya D-mannitol, asam serratagenik, asam queretaroic, asam ursolat, asam ikosahidropisenat, apigenin-7-glukosida, dan  $\beta$ -Dihidrofukosterol (Dongare et al., 2020; Patel et al., 2014).

Hasil pengujian dalam sebuah penelitian ekstrak etanol akar senggugu yang diujikan pada mencit yang diinduksi ovalbumin menunjukkan ekstrak mampu menghambat pelepasan mediator inflamasi. Berdasarkan hasil pengamatan histologi terlihat bahwa pemberian ekstrak mampu menurunkan kejadian peradangan dan penyempitan bronkus dibandingkan yang tidak diberikan ekstrak (Rizki et al., 2015). Penelitian lain melaporkan ekstrak air akar *C. serratum* memiliki efek antiinflamasi yang signifikan. Ekstrak akar dalam dosis rendah (90 mg/kg, p.o.) dan ekstrak batang dalam dosis tinggi (180 mg/kg, p.o.) menunjukkan efek pencegahan yang signifikan dibandingkan dengan deksametason (agen antiinflamasi standar), dari penelitian tersebut disimpulkan bahwa akar lebih efektif daripada batang dan berpotensi sebagai obat anti alergi dan anti inflamasi untuk penyakit seperti asma (Wang et al., 2018). Berdasarkan hal tersebut, senggugu terutama bagian akarnya berpotensi untuk dipelajari lebih lanjut dalam pengembangan obat. Pendekatan komputasi diperlukan terlebih dahulu untuk mengefisiensikan waktu dan biaya.

Berbagai protein target berperan terhadap penyakit asma diantaranya

*leukotriene A4 hydrolase* (LTA4H) dan *estrogen alpha* (ESR1) (Clyne et al., 2020). Namun LTA4H dan ESR1 lebih banyak digunakan sebagai protein target untuk penyakit kanker (Kusuma & Hadi, 2019; Noviardi & Fachrurrazie, 2015). Selain itu, penyakit saluran pernafasan yang disebabkan oleh proses inflamasi dapat terjadi melalui mekanisme yang dimodulasi oleh *chitotriosidase* (CHIT1). Berdasarkan penelitian *Virtual Screening* Kandungan Senyawa Kipas Laut (*Gorgonia mariae*) sebagai Antiasma, reseptor protein hCHIT1 dengan kode PDB 5NRA dapat digunakan sebagai reseptor target untuk uji aktivitas antiasma dengan basis *virtual screening* (Kelutur et al., 2020). Diketahui bahwa CHIT1 terlibat dalam patogenesis molekuler fibrosis paru, asma bronkial, *chronic obstructive lung diseases* (COPD), dan infeksi paru (Chang et al., 2020). Peningkatan kadar serum CHIT1 telah dilaporkan berkorelasi dengan konsentrasi reseptor interleukin-2, interleukin-1 $\beta$ , interleukin-8 dan TNF- $\alpha$  yang memainkan peran penting dalam prognosis penyakit ini (Kelutur et al., 2020). Berdasarkan peran CHIT1 dalam modulasi penyakit tersebut, CHIT1 dapat menjadi biomarker atau target terapi pada gangguan saluran nafas akibat inflamasi yang bekerja dengan cara menghambat reseptor *human Chitotriosidase-1(hCHIT-1)* (Cho et al., 2015).

Studi *in silico* mempunyai peran penting dalam merancang, menemukan dan optimasi senyawa bioaktif pada proses pengembangan obat (Khaerunnisa et al., 2020). Uji *in-silico* dilakukan dengan *docking* molekul yang akan memprediksi aktivitasnya pada sel target yang dipilih. Uji *in-silico* menghasilkan nilai energi ikatan. Semakin stabil ikatan ligan dengan reseptor maka dapat diprediksi aktivitas senyawa bioaktif juga semakin besar (Kesuma et al., 2018). Dalam menjalankan aksi *molecular docking* diperlukan suatu program, yang dalam penelitian ini digunakan aplikasi PLANTS. Sebagai salah satu format file kimia yang paling umum digunakan, PLANTS mampu menyimpan posisi atom, konektivitas, dan informasi

meta arbitrer dalam satu file (Gorgulla et al., 2021).

Berdasarkan uraian di atas, penelitian ini dilakukan untuk mempelajari potensi aktivitas antiasma dari senyawa aktif dalam akar senggugu (*C. serratum*) yang dilakukan berdasarkan studi *in silico* dengan simulasi *molecular docking* terhadap protein *hCHIT-1* dengan kode PDB 5NRA menggunakan PLANTS. Sebagai pembanding digunakan teofilin. Teofilin merupakan golongan xantin yang dilaporkan pertama sebagai obat penghambat reseptor kitinase, salah satunya adalah *chitotriosidase* (Mazur et al., 2018). Setelah dilakukan *molecular docking* dilanjutkan dengan analisis sifat farmakokinetika (absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas; ADMET) dengan menggunakan web pkCSM dan ProTox-II.

## 1. METODOLOGI PENELITIAN

**Bahan.** Struktur protein target *hCHIT-1* dengan kode PDB 5NRA. Struktur *native ligand*, senyawa pembanding teofilin dan senyawa aktif akar senggugu (*C. serratum*) yang diunduh pada website <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.

**Alat.** Peralatan yang digunakan adalah Laptop Asus X453M Intel Dual Core N2840 @2.16 GHz RAM 2 GB DDR3 500 GB Intel HD Graphics dan *software* yang digunakan adalah PLANTS, YASARA, MarvinSketch, dan Discovery Studio.

### Metode

1. **Persiapan Struktur Protein.** Preparasi protein hCHIT1 dengan kode 5NRA dilakukan dengan mengunduh dari website <https://www.rcsb.org/structure/5NRA>. Kristal protein dipreparasi dengan program YASARA dengan menghilangkan ligan dan air, kemudian ditambahkan hidrogen.
2. **Preparasi Struktur Ligan.** Untuk struktur *native ligand* 1-(5-azanyl-4-~{H}-1,2,4-triazol-3-yl)-~{N}-[2-(4-bromophenyl)ethyl]-~{N}-(2-methylpropyl)piperidin-4-amine diambil dari file protein. Struktur *native ligand* tersebut dipreparasi

- menggunakan YASARA. Sementara struktur ligan dari senyawa aktif akar senggugu (*C. serratum*) masing-masing diunduh melalui halaman web PubChem database dalam bentuk 2D. Dalam aplikasi Marvin Sketch protonasi diubah menjadi pH 7,4 (dengan cara klik Tools > Protonation > Major Microspecies > pH = 7,4 > OK > save as "ligand2D.mrv". File yang telah disimpan tadi dibuka dan dilakukan konformasi dengan cara klik Tools > Conformation > Conformers > set 20 konformer > save as "ligand.mol2" (Hasnaa et al., 2022).
3. **Validasi Molecular Docking.** Validasi dilakukan dengan cara memasukkan ligan spesifik dan reseptor dalam format .mol2 lalu klik Analyze > RMSD > Molecule). Sebuah protokol diterima apabila RMSD heavy atom < 2.0 Ångström (Hasnaa et al., 2022).
  4. **Analisis Lipinski's rule of five.** Analisis ini dilakukan untuk menganalisis sifat mirip obat yang menyatakan bahwa suatu senyawa memiliki sifat yang mirip dengan obat.
  5. **Molecular Docking dengan PLANTS.** Docking dilakukan terhadap *native ligand*, ligan pembanding dan ligan senyawa aktif akar senggugu sebanyak 7 senyawa. Masing-masing ligan tersebut ditambatkan pada sisi protein target 5NRA dengan menggunakan PLANTS melalui Command prompt. Sebelumnya perlu dipastikan pada suatu folder harus lengkap berisi file berikut: (1)cmd; (2)ligand.mol2, (3)ligand2D.mrv; (4)mingwm10.dll; (5)pc\_5nra.txt; (6)PLANTS; (7)protein.mol2 dan (8)ref\_ligand.mol2. Untuk mencari sisi pengikatan pada Command prompt diketik: plants --mode bind ref\_ligand.mol2 5 protein.mol2. Disalin *bindingsite* yang tertera ke dalam file pc\_5nra.txt. Selanjutnya untuk menjalankan docking dimasukkan perintah: plants --mode screen pc\_5nra.txt. Ditunggu hingga 20 entry selesai. Hasil docking dapat dilihat dengan memasukkan perintah: cd

results. Ketik kembali: more bestranking.csv. dari sana akan keluar hasil *docking* dari 20 koformer. Dicari konformer yang memiliki energi *docking* paling rendah (Manalu et al., 2021).

6. **Analisa dan Visualisasi Docking.** Perangkat lunak yang digunakan dalam penelitian untuk melihat hubungan antara ligan dengan reseptor ini adalah Discovery Studio. Pada perangkat lunak tersebut dibuka hasil *docking* terbaik yang sebelumnya telah disiapkan di aplikasi YASARA dalam bentuk .pdb. Pilih menu Receptor-Ligand Interactions, pilih tipe interaksi dan cakupan molekul yang akan dianalisa pada monitor non-bond interaction klik OK kemudian dapat dilihat interaksi yang terjadi dengan mengklik view interaction.
7. **Analisis ADMET.** Parameter ADMET dikalkulasikan dengan menggunakan program pkCSM yang diakses melalui situs <https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsml/prediction>. Untuk nilai LD50 dan kelas LD50 diprediksi menggunakan PtoTox-II yang dapat diakses pada situs [https://tox-new.charite.de/protox\\_II/](https://tox-new.charite.de/protox_II/). Prediksi parameter ADMET pada pkCSM dan ProTox II dilakukan dengan cara struktur kimia dari senyawa dalam format *canonical* SMILES yang dapat diperoleh melalui Pubchem disalin pada web lalu dipilih parameter yang ingin diprediksi. Program ini secara otomatis akan menghitung nilai prediksi dari parameter-parameter yang dipilih.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Hasil Analisis Preparasi Protein

Langkah awal dalam proses *docking* adalah preparasi struktur protein. Reseptor protein yang dipilih ialah struktur *hCHIT1* dengan kode 5NRA (Kelutur et al., 2020). Pemilihan protein target dengan kode PDB 5NRA disebabkan karena struktur tersebut memiliki resolusi sebesar 1,27 Å sehingga memungkinkan penentuan posisi atom dengan resolusi



tinggi. Struktur diunduh dengan format .pdb. Struktur makromolekul hCHIT1 tersebut berikatan dengan air, ligan, dan residu lainnya. Ligan dan molekul air ini harus dihilangkan dari makro molekul protein karena dapat memperpanjang durasi simulasi *docking* (Adiansyah et al., 2021).

Ligan yang terikat pada sisi aktif dapat menghalangi ligan lain berikatan, sementara adanya molekul air harus dihilangkan karena dapat mengganggu proses *docking* yaitu kemungkinan terikatnya ligan dengan molekul air melalui ikatan hidrogen. Pada dasarnya molekul air akan memediasi interaksi ligan dan reseptor protein, sehingga hasil *docking* semakin baik. Namun *docking* akan berlangsung lebih kompleks karena variabel persamaan-persamaan matematika *docking* yang perlu diselesaikan menjadi lebih banyak yang akan menyebabkan waktu *docking* semakin lama (Noviardi et al., 2020). Selanjutnya dilakukan juga penambahan hidrogen pada protein target dengan tujuan untuk memunculkan kembali atom hidrogen pada molekul sehingga ikatan hidrogen yang terbentuk dapat teramati dan untuk menyesuaikan suasana *docking* agar mendekati suasana di dalam tubuh (Susanti et al., 2019).

Preparasi protein 5NRA dilakukan dengan memisahkan protein dengan *native ligand* sehingga tersedia ruang pada protein yang dapat digunakan saat proses *docking*. Untuk *native ligand* dapat diambil langsung dari file protein target. Proses preparasi ini menggunakan aplikasi YASARA. Hasilnya akan diperoleh protein tanpa *native ligand* dan molekul *native ligand* yang tersimpan dalam bentuk file .pdb (Susanti et al., 2018).

#### Hasil Analisis Preparasi Ligan

Pada tahap selanjutnya dilakukan preparasi ligan, baik *native ligand*, ligan pembanding, maupun ligan uji. *Native ligand* yang sebelumnya telah dipreparasi, disimpan dengan nama ref\_ligand dalam format .mol2. Lalu dibuka dalam Marvin Sketch. Software Marvin Sketch memiliki fungsi sebagai media untuk menghasilkan

model atau struktur dalam dua dimensi dan tiga dimensi (Adiansyah et al., 2021). Setelah itu ligan dalam aplikasi Marvin Sketch protonasinya diubah menjadi pH 7,4. Hal tersebut dilakukan untuk menyesuaikan pH darah karena proses *docking* meniru reaksi yang ada di dalam tubuh manusia sehingga diharapkan hasil yang optimal (Agistia et al., 2013). Struktur ligan yang telah diprotonasi dibuka kembali pada Marvin Sketch untuk dilakukan 20 konformasi yang kemudian disimpan dalam format .mol2.

Setelah preparasi *native ligand*, dilakukan pula preparasi terhadap ligan pembanding dan ligan uji. Ligan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah ligan senyawa aktif akar senggugu (*C. serratum*). Sementara ligan pembanding yang digunakan adalah teofilin. Teofilin merupakan golongan xantin yang dilaporkan pertama sebagai obat penghambat reseptor kitinase, salah satunya adalah *chitotriosidase* (CHIT1) (Mazur et al., 2018). Selain itu diketahui bahwa teofilin merupakan obat anti asma yang telah beredar di pasaran.

Selanjutnya ligan-ligan tersebut diunduh dari laman web Pubchem (<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dengan cara menyalin canonical SMILES yang ada dan ditempelkan pada aplikasi Marvin Sketch. Preparasi kemudian dilanjutkan dengan cara yang sama untuk preparasi *native ligand*.

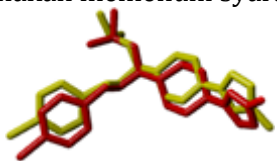
#### Hasil Analisis Validasi *Molecular Docking*

Validasi dilakukan dengan cara melakukan *docking* kembali *native ligand* yang telah dipreparasi terhadap protein yang telah dipreparasi. Proses ini bertujuan untuk melihat penyimpangan antara posisi atau konformasi *native ligand* sebelum dan sesudah di-*docking*-kan kembali. Penyimpangan yang minimal dapat meminimalisir kesalahan dalam memprediksi interaksi proses *molecular docking*, sehingga hasil yang diperoleh valid. Nilai penyimpangan dinyatakan sebagai RMSD.

RMSD (*Root Mean Square Deviation*) merupakan parameter yang menggambarkan besar perubahan

interaksi protein-ligan pada struktur kristal sebelum dan sesudah docking (Khaerunnisa et al., 2020). Semakin kecil nilai RMSD yang diperoleh menunjukkan bahwa pose ligan yang diprediksi semakin baik karena semakin mendekati konformasi *native ligand*. Proses *docking* in silico dinyatakan valid apabila diperoleh nilai RMSD <2Å, semakin nilai RMSD mendekati nol maka pose salinan *ligand copy* semakin mirip. Hal ini menunjukkan protokol yang dikembangkan diterima dan dapat dikembangkan lebih lanjut untuk skrining virtual dalam penemuan senyawa baru (Purnomo, 2011).

Pada penelitian ini, konformasi *native ligand* dengan kode PDB 5NRA yang memberikan nilai PLANTS terbaik (konformer 14) memiliki nilai RMSD sebesar 1,8485. Hal ini menunjukkan bahwa proses *docking* secara in silico yang dilakukan pada penelitian berhasil dan dinyatakan valid (< 2Å) yang berarti parameter metode *molecular docking* yang digunakan memenuhi syarat.



**Gambar 1.** Validasi molecular docking native ligand

#### Hasil Analisis *Lipinski's rule of five*

Selain dapat berefek sebagai antiasma diharapkan senyawa aktif akar senggugu juga mempunyai aktivitas biologis yang baik sebagai obat. Untuk melihat sifat fisikokimia suatu ligan ketika melintasi membran sel dalam tubuh maka dilakukan uji Lipinski. Parameter fisikokimia berhubungan dengan absorpsi dan permeabilitas obat yang dapat diterima dalam bioavailabilitas obat oral. Aturan Lipinski yang harus dipenuhi oleh suatu ligan diantaranya, berat molekulnya (BM) kurang dari 500 Dalton, memiliki lipofilitas yang tinggi (nilai koefisien partisi log P tidak lebih dari 5), jumlah donor ikatan hidrogen tidak lebih dari 5, dan jumlah akseptor ikatan hidrogen tidak lebih dari 10 (Lipinski, 2004).

**Tabel 1.** Hasil prediksi sifat fisikokimia (*Lipinski's rule of five*) senyawa aktif akar senggugu (*C. serratum*) dengan pembanding teofilin

| Ligan                          | BM      | IH<br>D | IH<br>A | LogP    |
|--------------------------------|---------|---------|---------|---------|
| Syarat                         | <500    | <5      | <10     | <5      |
| <b>Teofilin</b>                | 180,167 | 1       | 5       | -1,0397 |
| <b>Apigenin-7-glukosida</b>    | 432,381 | 6       | 10      | 0,0499  |
| <b>D-mannitol</b>              | 182,172 | 6       | 6       | -3,5854 |
| <b>β-Dihidrofukosterol</b>     | 414,718 | 1       | 1       | 8,0248  |
| <b>Asam ikosahidropis enat</b> | 342,523 | 1       | 1       | 5,8203  |
| <b>Asam queretaroic</b>        | 472,71  | 3       | 3       | 6,206   |
| <b>Asam serratagenik</b>       | 486,693 | 3       | 3       | 6,2983  |
| <b>Asam ursolat</b>            | 456,711 | 2       | 2       | 7,0895  |

Ket:

BM = Berat molekul (Dalton)

IHD = Ikatan hidrogen donor

IHA = Ikatan hidrogen akseptor

Berat molekul berpengaruh terhadap kemampuan senyawa berdifusi melalui membran sel secara difusi pasif. Ligan dengan berat molekul kurang dari 500 Dalton lebih mudah menembus membran sel dibandingkan ligan yang berat molekulnya lebih dari 500 Dalton (Adriani, 2018). Berdasarkan pada hasil prediksi *Lipinski's rule of five* semua ligan memenuhi syarat berat molekul karena kurang dari 500 Dalton.

Ikatan hidrogen donor dan ikatan hidrogen akseptor merupakan parameter yang bertujuan untuk mendeskripsikan kapasitas ikatan hidrogen suatu senyawa yang dibutuhkan dalam proses absorpsi, sehingga apabila jumlah ikatan hidrogen donor ≥10 dan akseptor ≥ 5 maka energi

yang diperlukan pada proses absorpsi akan semakin besar. Berdasarkan hasil prediksi senyawa  $\beta$ -Dihidrofukosterol, asam ikosahidropisenat, asam queretaroic, asam serratagenik, dan asam ursolat memenuhi syarat sementara apigenin-7-glukosida dan D-mannitol tidak memenuhi syarat sebab ikatan donornya  $>5$  yang berarti energi yang dibutuhkan untuk proses absorpsi lebih banyak.

Parameter selanjutnya adalah nilai log P. Nilai LogP berkaitan dengan polaritas ligan dalam pelarut lemak, minyak maupun pelarut nonpolar. Ligan dengan nilai LogP lebih dari 5 akan berinteraksi lebih mudah menembus lapisan lipid bilayer pada membran sel dan terdistribusi luas di dalam tubuh. Hal ini menyebabkan sensitivitas ikatan ligan terhadap molekul target berkurang dan toksisitas ligan meningkat. Semakin kecil nilai LogP maka ligan cenderung larut dalam air dan bersifat hidrofilik (Adriani, 2018). Pada Tabel 1. di samping menunjukkan bahwa hanya senyawa apigenin-7-glukosida dan D-mannitol yang memenuhi syarat nilai log P. Sementara  $\beta$ -Dihidrofukosterol, asam ikosahidropisenat, asam queretaroic, asam serratagenik, dan asam ursolat memiliki nilai log P  $>5$ . Semakin tinggi nilai log P maka semakin bersifat hidrofobik senyawa tersebut. Bila terlalu hidrofobik senyawa tersebut cenderung memiliki toksisitas yang lebih tinggi, sebab akan memiliki durasi waktu retensi yang lebih lama dalam lipid bilayer dan terdistribusi secara luas di dalam tubuh, sehingga mengurangi selektivitas pengikatan pada target (Shofi, 2021).

Menurut Lipinski (2004) jika senyawa tidak dapat memenuhi syarat *Lipinski's rule of five* maka ada kemungkinan besar bahwa akan ditemui masalah terkait aktivitas obat secara oral. Namun lulus syarat *Lipinski's rule of five* bukan menjadi jaminan bahwa senyawa itu memiliki aktivitas yang baik secara oral. Akan tetapi Chander et al pada tahun (2017) menyatakan bahwa 95% obat yang telah disetujui secara klinis memiliki sifat fisikokimia dengan syarat: berat molekul

(130 sampai 725 g/mol), ikatan hidrogen donor (0 sampai 6), ikatan hidrogen aseptor (2 sampai 10), log p (-2 sampai 6,5), dan atom yang dapat berotasi (0 sampai 15). Berdasarkan pernyataan tersebut senyawa apigenin-7-glukosida, D-mannitol, asam ikosahidropisenat, asam queretaroic, dan asam serratagenik masih dapat memenuhi syarat untuk digunakan sebagai senyawa obat baru dengan meningkatkan permeabilitasnya sehingga dapat digunakan sebagai obat alternatif pengganti teofilin.

### Hasil Analisis Molecular Docking dengan PLANTS

Dilakukan *molecular docking* antara ligan pembanding dan ligan uji dengan protein. Masing-masing ligan tersebut ditambatkan pada sisi protein target 5NRA dengan menggunakan PLANTS melalui Command prompt. Hasil dari *molecular docking* ini adalah berupa *docking score* dari masing-masing konformasi senyawa aktif akar senggugu pada reseptor *hCHIT1*. *Docking score* merupakan parameter kestabilan konformasi antara ligan dengan reseptor. Ligan dan reseptor yang berinteraksi satu sama lain akan cenderung berada dalam keadaan energi terendah membuat molekul dalam keadaan stabil. Semakin kecil *docking score* ligan dan reseptor, maka akan semakin stabil (Kartasasmita et al., 2010). Nilai *docking score* antara ligan dan protein adalah nilai energi ikatan bebas Gibbs ( $\Delta G$ ). Energi ikatan bebas Gibbs ( $\Delta G$ ) menunjukkan kekuatan ikatan antara ligan dan reseptor. Nilai energi ikatan bebas Gibbs yang semakin rendah (nilainya semakin negatif) menunjukkan tingkat kestabilan ikatan antara protein dengan ligan yang semakin baik. Kestabilan interaksi yang terjadi sebanding dengan kemampuan suatu senyawa dalam membentuk ikatan kimia yang kuat (Dari et al., 2022).

**Tabel 2.** Hasil analisis *molecular docking native ligand*, pembanding, dan ligan senyawa aktif akar senggugu

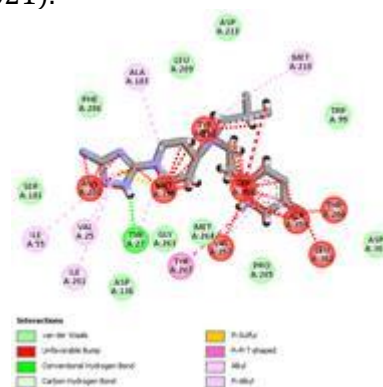
| No                                        | Ligan                  | Rumus Kimia                                         | Skor Docking     |
|-------------------------------------------|------------------------|-----------------------------------------------------|------------------|
| <b>Native ligand dan Ligan Pembanding</b> |                        |                                                     |                  |
| 1.                                        | Native ligand          | C <sub>19</sub> H <sub>29</sub> B<br>N <sub>6</sub> | -<br>128,69      |
| 2.                                        | Pembanding (Teofilin)  | C <sub>7</sub> H <sub>8</sub> N <sub>4</sub> O<br>2 | -<br>68,157<br>6 |
| <b>Ligan uji</b>                          |                        |                                                     |                  |
| 3.                                        | Apigenin-7-glukosida   | C <sub>21</sub> H <sub>20</sub> O <sub>10</sub>     | -<br>115,44      |
| 4.                                        | β-Dihidrofukosterol    | C <sub>29</sub> H <sub>50</sub> O                   | -<br>107,67<br>2 |
| 5.                                        | Asam ikosahidropisenat | C <sub>23</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>      | -<br>90,837<br>2 |
| 6.                                        | D-mannitol             | C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>       | -<br>76,244      |
| 7.                                        | Asam queretaroic       | C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>4</sub>      | -<br>73,470<br>6 |
| 8.                                        | Asam ursolat           | C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> O <sub>3</sub>      | -<br>63,824<br>1 |
| 9.                                        | Asam serratagenik      | C <sub>30</sub> H <sub>46</sub> O <sub>5</sub>      | -<br>60,584<br>5 |

Berdasarkan hasil penelitian, baik senyawa aktif akar senggugu maupun pembanding teofilin memiliki *docking score* yang lebih besar dibandingkan *native ligand* terhadap reseptor hCHIT1. Namun terdapat beberapa senyawa aktif akar senggugu yang memiliki *docking score* yang lebih kecil dibandingkan dengan ligan pembanding teofilin, diantaranya senyawa aktif apigenin-7-glukosida, D-mannitol, β-Dihidrofukosterol, asam ikosahidropisenat, dan asam queretaroic. Hal ini berarti bahwa apigenin-7-glukosida, D-mannitol, β-Dihidrofukosterol, asam ikosahidropisenat, dan asam queretaroic memiliki nilai interaksi yang lebih kuat dibandingkan molekul senyawa pembanding teofilin terhadap reseptor hCHIT1. Berdasarkan nilai *docking score* senyawa yang paling poten sebagai

kandidat obat antiasma dengan aktivitas yang lebih baik dari teofilin dapat diurutkan sebagai berikut, apigenin-7-glukosida, β-Dihidrofukosterol, asam ikosahidropisenat, D-mannitol, dan asam queretaroic.

### Hasil Analisis Visualisasi Docking

Visualisasi hasil *docking* dilakukan untuk mengetahui interaksi antara senyawa dengan residu-residu asam amino pada reseptor protein 5NRA. Parameter yang dianalisis adalah ikatan hidrogen dan pola interaksi lain dengan residu asam amino pada sisi aktif reseptor. Pengamatan interaksi residu asam amino bertujuan untuk mengidentifikasi interaksi yang terjadi antara ligan dan reseptor. Ikatan hidrogen merupakan interaksi yang dapat menstabilkan ikatan ligan dengan reseptor. Interaksi lain antara ligan yang dapat meningkatkan kestabilan konformasi adalah interaksi elektrostatis dan interaksi van der Waals (Adiansyah et al., 2021).



**Gambar 2.** Visualisasi docking native ligand dengan protein 5NRA

Ikatan hidrogen merupakan ikatan yang terkuat diantara ikatan non kovalen lainnya namun ikatan hidrogen lebih lemah dibandingkan ikatan ion atau ikatan kovalen, oleh karena itu ikatan hidrogen paling banyak tersebar dalam menghasilkan aktivitas farmakologi, sehingga penting untuk dilakukan analisis terhadap ikatan hidrogen apa saja yang terbentuk (Tabel 3). Selain itu, ikatan Van der Waals antara senyawa uji dan *native ligand* terhadap reseptor 5NRA juga



terjadi pada beberapa residu asam amino. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa agar suatu senyawa memiliki daya inhibisi terhadap reseptor hCHIT1 tersebut, maka perlu membentuk ikatan baik hidrogen ataupun Van der Waals.

Di antara residu asam amino yang berikatan pada interaksi antara protein 5NRA dan ligan uji, ada beberapa residu asam amino yang serupa diantaranya: (1) ikatan dengan GLY A:263 yang terjadi pada hampir semua ligan uji; (2) ikatan dengan MET A:264 terjadi pada 7 dari 9 interaksi ligan uji dengan protein 5NRA; (3) ikatan dengan CYS A:26, LEU A:209 dan TRP A:99 terjadi pada 6 ligan; (4) ikatan dengan PHE A:206, PHE A:58; PRO A:265 terjadi pada 5

ligan; (5) ikatan dengan residu asam amino TYR A:267 terjadi pada 4 ligan; dan (6) ASP A:213 dan TYR A:27 terjadi pada 3 ligan.

Berdasarkan hasil visualisasi terdapat beberapa kesamaan residu asam amino antara ligan uji dengan *native ligand*, yang menandakan adanya potensi dalam menghambat protein yang berikatan dengan ligan. Menurut Mazur et al. (2018), diantara residu asam amino tersebut, ASP A:213 merupakan residu asam amino yang paling crucial dalam aktivitas inhibisi hCHIT1, selain itu TRP A:99 menjadi residu asam amino terpenting kedua dalam aktivitas inhibisi hCHIT1.

**Tabel 3.** Data interaksi residu asam amino pada hasil docking ligan dan protein 5NRA

| Ligan                 | Residu asam amino                                                                                                                                                                       |                              |                        |                                                                                                                                                              |
|-----------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                       | Ikatan van der waals                                                                                                                                                                    | Ikatan hidrogen konvensional | Ikatan hidrogen karbon | Ikatan lain                                                                                                                                                  |
| <i>Native ligand</i>  | ASP A:136; ASP A:213; ASP A:363; GLY A:263; LEU A:209; MET A:264; PHE A:206; PRO A:265; SER A:181; TRP A:99                                                                             | TYR A:27                     |                        | <ul style="list-style-type: none"> <li>– Pi-sulfur</li> <li>– Pi-Pi T-shaped</li> <li>– Pi-Alkyl</li> <li>– Alkyl</li> </ul>                                 |
| Pembanding (Teofilin) | ALA A:183; ALA A:359; ASN A:208; CYS A:26; GLY A:263; MET A:264; PHE A:58; TRP A:99; TYR A:267                                                                                          |                              |                        | <ul style="list-style-type: none"> <li>– sulfur-X</li> <li>– Pi-Sulfur</li> <li>– Pi-Pi T-shaped</li> <li>– Pi-Alkyl</li> <li>– Alkyl</li> </ul>             |
| Apigenin-7-glukosida  | ALA A:211; ASP A:138; ASP A:213; ASP A:363; GLU A:140; ILE A:261; ILE A:378; ILE A:55; LEU A:209; LEU A:360; LEU A:381; PHE A:206; PHE A:58; THR A:266; TRP A:99; TYR A:267; VAL A:184; |                              | TYR A:27               | <ul style="list-style-type: none"> <li>– sulfur-X</li> <li>– Pi-Donor Hidrogen</li> <li>– Pi-Sulfur</li> <li>– Pi-Pi T-shaped</li> <li>– Pi-Alkyl</li> </ul> |
| D-mannitol            | ALA A:183; ASN A:208; CYS A:26; GLY A:263; ILE A:55; MET A:210; PRO A:265; THR A:266; TYR A:267; VAL A:25                                                                               | MET A:264                    | VAL A:357              | <ul style="list-style-type: none"> <li>– Pi-lone pair</li> </ul>                                                                                             |
| β-Dihidrofukosterol   | ALA A:182; ALA A:211; ASP A:136; ASP A:138; CYS A:26; GLY A:263; ILE A:261; ILE A:55; LEU A:209; LEU A:360;                                                                             |                              | TYR A:27               | <ul style="list-style-type: none"> <li>– Pi-Alkyl</li> <li>– Alkyl</li> </ul>                                                                                |

|                        |                                                                                                                                                                                                            |                      |           |                       |
|------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|-----------|-----------------------|
|                        | LEU A:262; MET A:264; PHE A:206; PHE A:28; PRO A:265; THR A:266; THR A:29; VAL A:184; VAL A:207; VAL A:25                                                                                                  |                      |           |                       |
| Asam ikosahidropisenat | ALA A:182; ALA A:211; ASP A:361; CYS A:26; GLY A:263; ILE A:261; ILE A:55; LEU A:209; LEU A:360; LEU A:362; MET A:264; PHE A:28; PRO A:265; THR A:266; THR A:29; TYR A:267; VAL A:184; VAL A:25; VAL A:207 |                      |           | – Pi-Alkyl<br>– Alkyl |
| Asam queretaroic       | ALA A:57; ALA A:95; ASN A:225; ASP A:138; CYS A:26; GLY A:263; LEU A:137; LEU A:209; LEU A:362; MET A:264; PHE A:206; PHE A:340; PHE A:58; SER A:181; TRP A:99; VAL A:184; VAL A:207; VAL A:25             | ALA A:182            |           | – Pi-Alkyl<br>– Alkyl |
| Asam serratagenik      | ALA A:182; ALA A:211; ALA A:57; ASP A:361; CYS A:26; ILE A:55; LEU A:262; LEU A:360; MET A:264; PHE A:58; PRO A:265; THR A:266; THR A:29; TRP A:31; TRP A:99; VAL A:184; VAL A:207; VAL A:25               | GLY A:263            |           | – Pi-Alkyl<br>– Alkyl |
| Asam ursolat           | ALA A:95; ASN A:225; ASP A:138; ASP A:213; GLY A:263; LEU A:209; LEU A:362; MET A:210; PHE A:206; PHE A:58; SER A:181; TRP A:99; VAL A:184; VAL A:207                                                      | ALA A:182; THR A:266 | VAL A:357 | – Pi-Alkyl<br>– Alkyl |

### Hasil Analisis ADMET

Pada pengembangan obat baru perlu dipelajari sifat farmakokinetika suatu senyawa kimia yang melibatkan aspek absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi dan toksisitas sebelum melakukan uji klinis. Prediksi sifat ADMET senyawa sangat penting terutama diperlukan dalam pengembangan senyawa obat baru, di mana informasi dapat digunakan untuk memprediksi berbagai fenomena farmakokinetik senyawa, yang diperlukan dalam pengembangan lebih lanjut dari senyawa calon obat. Uji terhadap sifat farmakokinetika sangat bermanfaat

sebagai informasi awal agar pengembangan obat tidak bersifat coba-coba (Pratama et al., 2020).

Parameter yang dapat diprediksi secara in silico terdiri dari sifat farmakokinetik dan prediksi toksisitas. Parameter sifat farmakokinetik diantaranya (1) absorpsi, yaitu HIA dan Caco2; (2) distribusi, berupa parameter VDss, BBB *permeability* dan CNS *permeability*; (3) parameter metabolisme diantaranya CYP2D6 dan CYP3A4 *substrate*; (4) ekskresi, yaitu *total clearance*, renal OCT2 *substrate* dan (5) parameter toksisitas diantaranya *oral rat acute toxicity* (LD50), kelas LD50, uji

mutagenic AMES, toksisitas pada hepar dan sensitivitas kulit. Parameter parameter tersebut didapatkan dengan menggunakan aplikasi berbasis web

pkCSM, kecuali pada parameter toksisitas yang diprediksi menggunakan Prottox II diantaranya LD50 dan kelas LD50.

**Tabel 4.** Hasil analisis ADMET senyawa aktif akar senggugu dengan pembandingan teofilin

| ADMET       | Parameter            | Senyawa |        |        |         |        |        |        |        |
|-------------|----------------------|---------|--------|--------|---------|--------|--------|--------|--------|
|             |                      | T       | A7G    | DM     | $\beta$ | AI     | AQ     | AS     | AU     |
| Absorbsi    | HIA (%)              | 100     | 37,609 | 25,401 | 94,464  | 100    | 96,83  | 66,366 | 100    |
|             | Caco2                | 0,623   | 0,33   | -0,441 | 1,201   | 1,233  | 0,465  | 0,503  | 1,171  |
| Distribusi  | VDss (human)         | 0,842   | 0,342  | -0,325 | 0,193   | -0,992 | -1,218 | -1,397 | -1,088 |
|             | BBB                  | -0,338  | -1,391 | -1,309 | 0,781   | -0,08  | -0,408 | -0,56  | -0,141 |
|             | CNS                  | -3,065  | -3,746 | -4,13  | -1,705  | -1,204 | -1,547 | -1,601 | -1,187 |
| Metabolisme | CYP2D6 Substrat      | tidak   | tidak  | tidak  | tidak   | tidak  | tidak  | tidak  | tidak  |
|             | CYP3A4 S             | tidak   | tidak  | tidak  | ya      | Ya     | ya     | ya     | ya     |
|             | CYP1A2 I             | tidak   | tidak  | tidak  | tidak   | tidak  | tidak  | tidak  | tidak  |
|             | CYP2C19 I            | tidak   | tidak  | tidak  | tidak   | tidak  | tidak  | tidak  | tidak  |
|             | CYP2C9 I             | tidak   | tidak  | tidak  | tidak   | tidak  | tidak  | tidak  | tidak  |
|             | CYP2D6 I             | tidak   | tidak  | tidak  | tidak   | tidak  | tidak  | tidak  | tidak  |
|             | CYP3A4 I             | tidak   | tidak  | tidak  | tidak   | tidak  | tidak  | tidak  | tidak  |
| Ekskresi    | Total Klirens        | 0,304   | 0,547  | 0,919  | 0,628   | 0,552  | 0,026  | -0,077 | 0,083  |
|             | Renal OCT2 substrate | tidak   | tidak  | tidak  | tidak   | tidak  | tidak  | tidak  | tidak  |
| Toksisitas  | LD50                 | 127     | 5000   | 13500  | 890     | 750    | 2000   | 6176   | 2000   |
|             | Kelas LD50           | 3       | 5      | 6      | 4       | 4      | 4      | 6      | 4      |
|             | AMES                 | tidak   | tidak  | tidak  | tidak   | tidak  | tidak  | tidak  | tidak  |
|             | Toksisitas hepar     | ya      | tidak  | tidak  | tidak   | Ya     | ya     | tidak  | ya     |
|             | Sensitivitas kulit   | tidak   | tidak  | tidak  | tidak   | tidak  | tidak  | tidak  | tidak  |

### Absorbsi

Terdapat dua parameter yang diukur untuk analisis profil absorpsi yaitu HIA dan nilai Caco2. HIA atau *Human Intestinal Absorption* merujuk pada usus untuk penyerapan obat dari larutan yang diberikan secara oral. Nilai HIA 0-20% menunjukkan absorpsi senyawa yang kurang baik, HIA 20-70% menunjukkan absorpsi senyawa tergolong sedang, dan nilai HIA sebesar 70-100% menunjukkan absorpsi senyawa yang baik (Az-zahra et al., 2022). Dari ketujuh senyawa yang diuji, diketahui ada 3 senyawa yang memiliki daya penyerapan sedang, diantaranya apigenin-7-glukosida, D-mannitol, dan asam serratagenik. Sedangkan untuk 4 senyawa lainnya memiliki daya penyerapan yang baik, diantaranya,  $\beta$ -

Dihidrofukosterol, asam ikosahidropisenat, asam queretaroic, dan asam ursolat. Untuk senyawa pembandingan teofilin yang digunakan, juga memiliki daya penyerapan yang baik.

Selanjutnya prediksi nilai Caco-2, Caco-2 terdiri dari sel-sel adenokarsinoma kolorektal epitel manusia. Caco-2 monolayer sel secara luas digunakan sebagai model in vitro dari mukosa usus manusia untuk memprediksi penyerapan obat yang diberikan secara oral. Model ini didasarkan pada 674 molekul seperti obat dengan nilai permeabilitas Caco-2 dan memprediksi logaritma koefisien permeabilitas semu ( $\log P_{app}$ :  $\log \text{ cm/s}$ ). Suatu senyawa dianggap memiliki permeabilitas Caco-2 yang tinggi jika memiliki  $P_{app} > 8 \times 10^{-6} \text{ cm/s}$ . Untuk

model prediktif pkCSM, permeabilitas Caco-2 yang tinggi akan diterjemahkan dalam nilai prediksi > 0,90 (Nursanti, 2019). Hasil prediksi dengan Caco-2 yang tinggi ialah ditunjukkan oleh senyawa  $\beta$ -Dihidrofukosterol, asam ikosahidropisenat, dan asam ursolat. Sementara keempat senyawa lainnya menunjukkan nilai Caco-2 yang tidak cukup tinggi serupa dengan senyawa pembanding teofilin memiliki permeabilitas Caco-2 <0,90. Berdasarkan hasil prediksi, senyawa obat uji memiliki daya serap dan permeabilitas yang cukup baik meskipun terdapat beberapa senyawa yang masih menunjukkan tingkat permeabilitas yang rendah.

#### Distribusi

Parameter distribusi yang dianalisis berupa VDss, *blood-brain barrier* (BBB) *permeability* dan *central nervous system* (CNS) *permeability*. Nilai VDss adalah volume teoritis dosis total obat yang harus didistribusikan secara merata untuk memberikan konsentrasi yang sama seperti dalam plasma darah. VDss dianggap rendah jika di bawah 0,71 L/kg ( $\log \text{VDss} < -0,15$ ) dan tinggi jika di atas 2,81 L/kg ( $\log \text{VDss} > 0,45$ ) (Nursanti, 2019). Berdasarkan hasil analisis profil distribusi (Tabel 4), semua senyawa uji memiliki nilai VDss yang rendah. Sementara nilai VDss untuk pembanding teofilin termasuk tinggi.

Permeabilitas BBB adalah kemampuan suatu obat untuk masuk ke otak untuk membantu mengurangi efek samping dan toksisitas atau untuk meningkatkan kemanjuran aktivitas farmakologi suatu obat. BBB diukur secara eksperimental. Untuk senyawa yang diberikan,  $\log \text{BB} > 0,3$  dianggap siap melewati sawar darah-otak sementara molekul dengan  $\log \text{BB} < -1$  kurang terdistribusi ke otak (Nursanti, 2019). Dari Tabel 4 di atas beberapa senyawa kurang terdistribusi ke otak, seperti apigenin-7-glukosida dan D-mannitol, untuk  $\beta$ -Dihidrofukosterol mampu melewati sawar darah otak, sementara asam ikosahidropisenat, asam queretaroic, asam serratagenik, dan asam ursolat menunjukkan nilai permeabilitas

BBB sedang untuk pembanding teofilin juga menunjukkan nilai permeabilitas BBB sedang.

*CNS Permeability* adalah pengukuran yang diperoleh dari perfusi otak dengan senyawa yang langsung disuntikkan ke dalam arteri karotis. Senyawa dengan  $\log \text{PS} > -2$  dianggap menembus CNS, sedangkan senyawa dengan  $\log \text{PS} < -3$  dianggap tidak dapat menembus CNS (Nursanti, 2019). Terlihat dari Tabel 4 senyawa aktif  $\beta$ -Dihidrofukosterol, asam ikosahidropisenat, asam queretaroic, asam serratagenik, dan asam ursolat dapat menembus CNS, sementara apigenin-7-glukosida dan D-mannitol tidak dapat menembus CNS karena nilai *CNS permeability*-nya <-3 serupa dengan pembanding teofilin yang tidak dapat menembus CNS.

#### Metabolisme

Tujuan metabolisme adalah membuat obat menjadi lebih polar, sehingga mudah untuk diekskresikan dari dalam tubuh melalui proses reaksi oksidasi, reduksi, hidrolisis, dan lainnya. Parameter metabolisme diantaranya dilihat melalui aktivitas senyawa terhadap sitokrom (CYP) dimana beberapa sitokrom yang diamati yaitu CYP2D6 *substrate*, CYP3A4 *substrate*, CYP1A2 inhibitor, CYP2C19 inhibitor, CYP2C9 inhibitor, CYP2D6 inhibitor, dan CYP3A4 inhibitor (Dari et al., 2022).

Berdasarkan tabel di atas apigenin-7-glukosida dan D-mannitol tidak ada aktivitas hambatan maupun pada seluruh substrat. Namun, untuk senyawa  $\beta$ -Dihidrofukosterol, asam ikosahidropisenat, asam queretaroic, asam serratagenik, dan asam ursolat ada hambatan pada CYP3A4 *substrate* (Pratama, 2021). Senyawa uji apigenin-7-glukosida dan D-mannitol tidak menghambat proses metabolisme yang dilakukan oleh sitokrom P450. Prediksi juga menunjukkan senyawa tersebut dapat dimetabolisme oleh sitokrom P450 dan mudah diekskresikan.

#### Ekskresi

*Clearance total* (CLTOT) merupakan kombinasi dari *renal clearance* (ekskresi



melalui ginjal) dan *hepatic clearance* (metabolisme di hati dan empedu). Parameter ini penting untuk menentukan ukuran dosis agar dapat mencapai konsentrasi pada steady-state dan berkaitan dengan bioavailabilitas. *Renal Organic Cation Transporter 2* (OCT2) *substrate* adalah transporter pengambilan ginjal yang memiliki peran penting dalam disposisi dan pembersihan obat dan senyawa endogen ginjal. Substrat OCT2 juga memiliki potensi untuk interaksi yang merugikan dengan inhibitor OCT2 yang diberikan bersama (Nursanti, 2019).

Nilai CLTOT dapat dilihat pada Tabel 4 yang menunjukkan prediksi nilai CLTOT dengan kecepatan ekskresi senyawa dengan satuan  $\log \text{ ml/min/kg}$ . Selanjutnya, diketahui bahwa semua senyawa uji tidak berpengaruh terhadap substrat OCT2 yang artinya senyawa tersebut diprediksi bukan substrat OCT2 sehingga meminimalkan kemungkinan terjadi interaksi yang tidak diinginkan.

#### **Toksistas**

Dalam perancangan senyawa obat baru selain dapat berikatan dengan reseptor target dan memiliki sifat farmakokinetika yang baik, senyawa tersebut juga tentunya harus aman bagi tubuh serta tidak menimbulkan efek toksis bagi tubuh jika senyawa obat tersebut dimetabolisme di dalam tubuh. Oleh karena itu, perlu dilakukan prediksi toksistas terhadap senyawa yang diujikan tersebut (Noviardi et al., 2020). Pada penelitian ini, uji toksistas dilakukan untuk mengetahui apakah senyawa yang diuji memiliki sifat toksik terhadap tubuh yang meliputi, nilai LD50 dan kelas LD50 menggunakan ProTox II serta uji mutagenic AMES, toksistas pada hepar dan sensitivitas kulit diprediksi menggunakan pkCSM (Az-Zahra, 2022). Parameter toksistas yang diprediksi hasilnya dapat dilihat pada Tabel 4.

Prediksi toksistas berdasarkan nilai LD50 (Lethal Dose 50) berhubungan dengan dosis tunggal suatu zat yang dapat menyebabkan kematian 50% hewan percobaan. Semakin besar nilai LD50 maka bahan yang diuji semakin aman

(Umboro et al., 2020). Berdasarkan Tabel 48 didapatkan hasil senyawa dengan tingkat toksistas paling rendah ke tinggi secara berurutan diantaranya D-mannitol, asam serratagenik, apigenin-7-glukosida, asam queretaroic, asam ursolat,  $\beta$ -Dihidrofukosterol, asam ikosahidropisenat, dan teofilin yang paling toksik. D-mannitol dan asam serratagenik diprediksi masuk dalam klasifikasi kelas toksistas VI yaitu lebih dari 5000 mg/kg yang diartikan tidak beracun. Untuk senyawa apigenin-7-glukosida diprediksi masuk klasifikasi kelas toksistas V dengan nilai  $2000 < LD50 \leq 5000 \text{ mg/kg}$  yang berarti mungkin berbahaya jika tertelan. Sementara  $\beta$ -Dihidrofukosterol, asam ikosahidropisenat, asam queretaroic, dan asam ursolat memasuki kelas IV karena berada dalam rentang  $300 < LD50 \leq 2000$ . Sementara pembanding teofilin diprediksi masuk dalam klasifikasi kelas toksistas III dengan nilai 127 mg/kg (Banerjee et al., 2018).

Pengujian mutagenik AMES merupakan salah satu pengujian toksistas yang penting untuk menilai resiko genotoksik. Terlihat bahwa semua senyawa baik pembanding teofilin maupun senyawa uji tidak menimbulkan mutasi pada uji AMES. Untuk prediksi toksistas hati, senyawa pembanding teofilin, asam ikosahidropisenat, asam queretaroic, dan asam ursolat menunjukkan hasil positif, sementara apigenin-7-glukosida, D-mannitol,  $\beta$ -Dihidrofukosterol, dan asam serratagenik diprediksi aman untuk hepatotoksik. Prediksi sensitivitas pada kulit berkaitan dengan alergi pada kulit akibat paparan zat tertentu. Hasil menunjukkan bahwa keseluruhan senyawa tidak sensitif terhadap kulit.

#### **Potensi antiasma dari senyawa aktif akar senggugu**

Berdasarkan seluruh hasil analisis sifat fisikokimia menggunakan lipinski's rule of five, dan parameter ADME serta toksistas dari ketujuh senyawa aktif, senyawa  $\beta$ -Dihidrofukosterol merupakan kandidat yang paling baik, sebab  $\beta$ -Dihidrofukosterol menunjukkan hasil skor

docking terendah kedua (-107,672) dengan parameter absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi yang baik. Begitu pula berdasarkan hasil prediksi toksisitas  $\beta$ -Dihidrofukosterol masuk ke dalam kelas IV yang masih lebih aman dibandingkan obat pembanding teofilin. Senyawa  $\beta$ -Dihidrofukosterol juga diprediksi tidak memiliki sifat mutagenik, hepatotoksik, ataupun sensitif untuk kulit.

Selain itu kandidat terbaik kedua dari senyawa aktif akar senggugu dengan skor docking paling rendah (-115,44) adalah apigenin-7-glukosida, walaupun menghasilkan interaksi yang paling kuat terhadap protein target, namun apigenin-7-glukosida menunjukkan sifat fisikokimia tidak lebih baik dari  $\beta$ -Dihidrofukosterol, daya absorpsinya sedang dengan %HIA sebesar 37,609% jauh lebih kecil dari  $\beta$ -Dihidrofukosterol (94,464%) dan tidak dapat menembus sistem saraf pusat.

## KESIMPULAN

Senyawa aktif apigenin-7-glukosida,  $\beta$ -Dihidrofukosterol, D-mannitol, asam ikosahidropisenat, asam queretaroic, asam serratagenik, dan asam ursolat memenuhi syarat analisis drug likeness dengan *Lipinski's rule of five* untuk digunakan sebagai senyawa obat baru. Berdasarkan hasil molecular docking senyawa aktif dalam akar senggugu (*C. serratum*) yang memiliki potensi menghambat reseptor *hCHIT1* sebagai antiasma dapat diurutkan sebagai berikut, apigenin-7-glukosida (-115,44),  $\beta$ -Dihidrofukosterol (-107,672), asam ikosahidropisenat (-90,872), D-mannitol (-76,244), dan asam queretaroic (-73,4706). Berdasarkan analisis sifat farmakokinetika (absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas; ADMET) dari senyawa aktif akar senggugu yang memiliki sifat farmakokinetik paling baik ialah  $\beta$ -Dihidrofukosterol. Sehingga  $\beta$ -Dihidrofukosterol merupakan kandidat obat antiasma paling baik diantara senyawa aktif akar senggugu.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adiansyah, Hutaauruk, D., & Nainggolan, L. D. (2021).** Aktivitas Penghambatan Enzim Protease 6LU7 Virus Sarscov-2 oleh Senyawa Flavonoid dari Tumbuhan Genus *Artocarpus* Secara In Silico. *Farmanesia*, 8(2), 59–68.
- Adriani. (2018).** Prediksi Senyawa Bioaktif dari Tanaman Sanrego (*Lunasia amara* Blanco) sebagai Inhibitor Enzim Siklooksigenase-2 (Cox-2) melalui Pendekatan Molecular Docking. *Jurnal Ilmiah Pena*, 1(1), 6–11.
- Agistia, D. D., Purnomo, H., Tegar, M., & Nugroho, A. E. (2013).** Interaction Between Active Compounds from *Aegle marmelos* Correa. as Anti Inflammation Agent With Cox-1 and Cox-2 Receptor. *Traditional Medicine Journal*, 18(May), 80–87.
- Anonim. (2020).** Asthma. *The Lancet: Global Health Metrics*, 396.
- Az-zahra, F., Afidika, J., Diamantha, S. D. A., Rahmani, A. E., Fatimah, S., Aulifa, D. L., Elaine, A. A., & Sitinjak, B. D. P. (2022).** In Silico Study of Betel Leaves Compound (Piper betle L.) as Acetylcholinesterase (AChE) Enzyme Inhibitor in Alzheimer Disease. *Indonesian Journal of Biological Pharmacy*, 2(2), 44–58.
- Banerjee, O.A., E., A.K., S., & R., P. (2018).** ProTox-II: a webserver for the prediction of toxicity of chemicals. *Nucleic Acids Res (Web server issue 2018)*.
- Chander, S., Tang, C. R., Al-Maqtari, H. M., Jamalis, J., Penta, A., Hadda, T. Ben, Sirat, H. M., Zheng, Y. T., & Sankaranarayanan, M. (2017).** Synthesis and study of anti-HIV-1 RT activity of 5-benzoyl-4-methyl-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1,5-benzodiazepin-2-one derivatives. *Bioorganic Chemistry*, 72, 74–79. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2017.03.013>
- Chang, D., Sharma, L., & Dela Cruz, C. S. (2020).** Chitotriosidase: A marker and modulator of lung disease. *European Respiratory Review*, 29(156), 1–12.

- <https://doi.org/10.1183/16000617.0143-2019>
- Cho, S. J., Weiden, M. D., & Lee, C. G. (2015).** Chitotriosidase in the Pathogenesis of Inflammation, Interstitial Lung Diseases and COPD. *Allergy, Asthma & Immunology Research*, 7(1), 14–21. <https://doi.org/https://doi.org/10.4168/aaair.2015.7.1.14>
- Clyne, A., Yang, L., Yang, M., May, B., & Yang, A. (2020).** Molecular Docking and Network Connections of Active Compounds from The Classical Herbal Formula Ding Chuan Tang. *PeerJ*, 8. <https://doi.org/10.7717/peerj.8685>
- Dari, D. W., Andika, & Mirajunnisa. (2022).** Uji Potensi Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman Putri Malu (*Mimosa pudica* L.) sebagai Inhibitor Xanthine Oxidase Secara In Silico. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 3(2), 171–183.
- Dongare, G., Kale, A., Band, P., Chavan, A., Aher, & Gawali, S. (2020).** A Review on Phytochemical and Pharmacological Action of *Clerodendrum serratum* Linn. (Bharangi). *World Journal of Pharmaceutical Research*, 9(2), 229–236. <https://doi.org/10.5530/pj.2018.1.2>
- Gorgulla, C., Cinaroglu, S. S., Fischer, P. D., Fackeldey, K., Wagner, G., & Arthanari, H. (2021).** VirtualFlow Ants—Ultra-Large Virtual Screenings with Artificial Intelligence Driven Docking Algorithm Based on Ant Colony Optimization. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11). <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/ijms22115807>
- Hasnaa, N. R., Manalu, R. T., & Subaryanti. (2022).** Molecular Docking of Turmeric Active Compounds (*Curcuma longa* L.) against Main Protease in Covid-19 Disease. *East Asian Journal of Multidisciplinary Research*, 1(3), 353–364. <https://doi.org/10.55927/eajmr.v1i3.101>
- Hidayat, S., & Napitupulu, R. M. (2015).** *Kitab Tumbuhan Obat*. AgriFlo (Penebar Swadaya Grup).
- Kartasasmita, R. E., Herowati, R., Harmastuti, N., & Gusdinar, T. (2010).** Quercetin Derivatives Docking Based on Study of Flavonoids Interaction to Cyclooxygenase-2. *Indonesian Journal of Chemistry*, 9(2). <https://doi.org/https://doi.org/10.22146/ijc.21545>
- Kelutur, F. J., Mustarichie, R., & Umar, A. K. (2020).** Virtual Screening Kandungan Senyawa Kipas Laut (*Gorgonia mariae*) sebagai Anti-Asma. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 16(2), 48. <https://doi.org/10.20961/alchemistry.16.2.39965.48-59>
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2018).** *Hasil Utama RISKESDAS 2018 Kesehatan*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI. [http://www.depkes.go.id/resources/download/info-terkini/materi\\_rakorpop\\_2018/HasilRiskesdas2018.pdf](http://www.depkes.go.id/resources/download/info-terkini/materi_rakorpop_2018/HasilRiskesdas2018.pdf)
- Kesuma, D., Siswandono, S., Purwanto, B. T., & Hardjono, S. (2018).** Uji in silico Aktivitas Sitotoksik dan Toksisitas Senyawa Turunan N-(Benzoil)-N'-feniltiourea Sebagai Calon Obat Antikanker. *JPSCR : Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 3(1), 1. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v3i1.16266>
- Khaerunnisa, S., Suhartati, & Awaluddin, R. (2020).** *Penelitian In Silico untuk Pemula*. Airlangga University Press.
- Kusuma, A. T., & Hadi, D. (2019).** Virtual Screening Natural Compounds from Plants as Inhibitor of Estrogen Receptor Alpha I (ESR1). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology Journal Homepage*, 1(1), 30–41. <http://jurnal.unpad.ac.id/ijpst/>
- Lipinski, C. A. (2004).** Lead-and Drug-Like Compounds: The Rule-of Five Revolution. *Drug Discovery Today*,

*Technologi*(4).

<https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2004.1.007>

**Manalu, R. T., Safitri, H., Sari, H. P., Devina, R., Irnawati, I., & Liliwana, E. A. (2021).** Analisis In-silico Penghambatan Main Protease (MPRO) Pada SARS-CoV-2 Oleh Senyawa Aktif Teh Hijau (*Camelia sinensis*). *Jurnal Farmagazine*, 8(2), 1. <https://doi.org/10.47653/farm.v8i2.548>

**Mazur, M., Olczak, J., Olejniczak, S., Koralewski, R. Czeszkowski, W. Jedrzejczak, A., Golab, J., Dzwonek, K., Dymek, B., Sklepkiwicz, P. L. Zagozdzon, A., Noonan, T., Mahboubi, K., Conway, B., Sheeler, R., Beckett, P., Hungerford, W. M. Podjarny, A., Mittschler, A., Siah, A. C., Fadel, F., & Golebiowski, A. (2018).** Targeting Acidic Mammalian chitinase is Effective in Animal Model of Asthma. *Journal of Medicinal Chemistry*, 61(3), 695–710.

**Morris, M. J. (2022).** *Asthma*. MedScape. [https://emedicine.medscape.com/article/296301-overview?icd=ssl\\_login\\_gg\\_221126&isSocialFTC=true#a1](https://emedicine.medscape.com/article/296301-overview?icd=ssl_login_gg_221126&isSocialFTC=true#a1)

**National Heart Lung and Blood Institute. (2022).** *Asthma*. NHLBI. <https://www.nhlbi.nih.gov/health/asthma>

**Noviardi, H., & Fachrurrazie. (2015).** Potensi Senyawa Bullatalisin sebagai Inhibitor Protein Leukotrien A4 Hidrolase pada Kanker Kolon secara In Silico. *Fitofarmaka*, 5(2).

**Noviardi, H., Masaenah, E., & Ramadhan, R. (2020).** Penapisan Molekular Kandidat Obat Sintetik Tuberkulosis terhadap Protein Tirosin Kinase Mycobacterium tuberculosis. *Jurnal Farmamedika (Pharmamedica Journal)*, 5(2), 60–69. <https://doi.org/10.47219/ath.v5i2.104>

**Nursanti, O. (2019).** Validasi Penambatan Molekul untuk Mendapatkan Ligan Aktif pada Reseptor Cyclooxygenase 2.

*Prosiding Seminar Informasi Kesehatan Nasional.*

**Patel, J. J., Acharya, S. R., & Acharya, N. S. (2014).** *Clerodendrum serratum* (L.) Moon. - A Review on Traditional Uses, Phytochemistry and Pharmacological Activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 154(2), 268–285. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.03.071>

**Pratama, M. R. F., Poerwono, H., & Siswodiharjo, S. (2020).** ADMET Properties of Novel 5-O-benzoylpinostrobin Derivatives. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 30(6). <https://doi.org/10.1515/jbcpp-2019-0251>

**Purnomo. (2011).** *Kimia Komputasi: Molecular docking PLANTS (Protein-Ligand ANT System)*. Pustaka Belajar.

**Rizki, M. I., Chabib, L., Nabil, A., Yusuf, B., Kunci, K., Tanaman, :, & -Asma, A. (2015).** Tanaman dengan Aktivitas Anti-Asma. *Jurnal Pharmascience*, 2(1), 1–9.

**Shofi, M. (2021).** Analisis Senyawa  $\alpha$ -spinasterol pada Biji Trembesi (*Samanea saman* (jacq.) Merr) terhadap Penghambatan 3C-like Protease SARS-CoV melalui Uji In Silico. *Jurnal Sintesis*, 2(2), 74–87.

**Suryo, J. (2010).** *Herbal Penyembuh Gangguan Sistem Pernapasan*. Bentang Pustaka.

**Susanti, N. M. P., Laksmiani, N. P. L., Noviyanti, N. K. M., Arianti, K. M., & Duantara, I. K. (2019).** Molecular Docking Terpinen-4-Ol Sebagai Antiinflamasi Pada Aterosklerosis Secara in Silico. *Jurnal Kimia*, 221. <https://doi.org/10.24843/jchem.2019.v13.i02.p16>

**Susanti, N. M. P., Saputra, D. P. D., Hendrayati, P. L., Parahyangan, I. P. D. N., & Swandar, I. A. D. G. (2018).** Molecular Docking Sianidin dan Peonidin Sebagai



Studi In Silico: Senyawa Aktif Akar Senggugu (*Clerodendrum serratum*) terhadap Penghambatan Reseptor Human Chitotriosidase-1(hCHIT1) sebagai Antiasma

Herdini, Intan Ririn Setyawati – Sainstech Vol. 33 No. 2 (Juni 2023): 91 - 107

DOI: <https://doi.org/10.37277/stch.v33i2> (<https://ejournal.istn.ac.id/index.php/sainstech/article/view/1717/1122>)

Antiinflamasi pada Aterosklerosis  
Secara In Silico. *Jurnal Farmasi  
Udayana*, 7(1), 28–33.

**Wang, J. H., Luan, F., He, X. D., Wang, Y., & Li, M. X. (2018).** Traditional uses and pharmacological properties of *Clerodendrum* phytochemicals. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 8(1), 24–38.  
<https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2017.04.001>

**WHO. (2022).** *Asthma*. World Health Organization.  
<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/asthma>