

# PREDIKSI TOKSISITAS SENYAWA JAMU ANTI-HIPERTENSI DENGAN RESEPTOR ANGIOTENSIN II TIPE 1 (AGTR1) SECARA IN SILICO

Rizky Lestari<sup>1</sup>, Lusi Agus Setiani<sup>1</sup>, Usep Suhendar<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan, Bogor

## ABSTRAK

Penggunaan jamu antihipertensi dimasyarakat merupakan salah satu pengobatan hipertensi. Kombinasi tanaman sebagai antihipertensi terdiri dari Imperatae rhizoma, Centella herba, Pyllanthi herba, Orhosiphonis folium, Curcumae rhizoma, dan Apii graviolentis. Jamu diketahui bekerja secara sinergis pada banyak reseptor, salah satunya adalah reseptor AGTR1. Sebagai skrining awal keamanan jamu antihipertensi dilakukan prediksi toksisitas berdasarkan interaksinya pada reseptor. Penelitian ini bertujuan memprediksikan interaksi senyawa jamu antihipertensi terhadap reseptor AGTR1 (PDB ID: 4ZUD) dan memprediksi toksisitas senyawa dengan interaksi terbaik secara in silico. Terdapat 196 senyawa dalam jamu antihipertensi yang akan diskrining menggunakan parameter Lipinski's Rule of Five (ROF). Autodock 4.2 digunakan untuk memprediksi interaksi 126 senyawa yang memenuhi ROF. Dari hasil penambatan diperoleh 14 senyawa dan diambil 5 senyawa dengan interaksi terbaik untuk diprediksikan toksisitas akut dengan nilai LD50 dan toksisitas kronisnya dengan parameter, karsinogen, mutagen, hepatotoksik, dan nefrotoksik menggunakan tools Ochem, Protox II, dan Toxtree. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan senyawa dengan interaksi terbaik adalah alnustone, hinokinin, nirtetralin, 3-O-cis-p-coumaroylkaempferol, dan hypophyllanthin. Hypophyllanthin memiliki interaksi terbaik dengan nilai konstanta inhibisinya 3,16  $\mu\text{M}$ , energi bebas Gibbs ( $\Delta G$ ) -7,5 kkal/mol, dan berikatan dengan 12 asam amino. Dari kelima senyawa tidak ada yang bersifat hepatotoksik; Senyawa alnustone diprediksi karsinogen mutagen; senyawa alnustone dan 3-O-cis-p-coumaroylkaempferol diprediksi nefrotoksik; serta senyawa hypophyllanthin dan nirtetralin diprediksi toksik dengan nilai LD50 500 mg/kg.

## Kata Kunci :

Antihipertensi, in silico, jamu, penambatan, toksisitas.

## PENDAHULUAN

Tekanan darah tinggi atau dikenal sebagai hipertensi merupakan naiknya tekanan darah sistolik dan diastolik  $\geq 140/90$  mm Hg yang disebabkan karena kelainan jantung dan pembuluh darah [1]. Hipertensi merupakan silent killer karena pasien merasa gejala yang timbul bukan gejala yang berbahaya sehingga pasien abai terhadap pengobatan yang dianjurkan tenaga kesehatan [2]. Berdasarkan data World Health Organization (WHO) pada tahun 2021 diperkirakan 46% orang tidak menyadari merupakan pengidap hipertensi dan hanya 42% orang pasien hipertensi yang melakukan pengobatan. Angka ini diperkirakan akan terus meningkat jika tidak dilakukan pengobatan yang tepat [3]. Sedangkan berdasarkan data Riskesdas tahun 2018 13,3% pasien hipertensi tidak melakukan pengobatan dan 32,3% pasien hipertensi tidak rutin dalam melakukan pengobatan [4].

Pengobatan hipertensi merupakan terapi supresi dengan kata lain pengobatannya hanya untuk mengurangi resiko mortalitas dan morbiditas jangka panjang sehingga pengobatan hipertensi dapat berlangsung seumur hidup [5]. Pengobatan hipertensi menggunakan obat konvensional menimbulkan kekhawatiran bagi pasien terhadap efek samping yang ditimbulkan [6] sehingga pasien hipertensi lebih memilih mengkonsumsi kombinasi bahan alam, yang biasa dikenal dengan jamu karena dipercaya secara turun temurun dapat mengatasi penyakit dengan efek samping seminimal mungkin [7]. Berdasarkan data dari Kementerian Kesehatan RI (Kemenkes RI) konsumsi jamu merupakan salah

satu alasan terbesar (14,5%) pasien hipertensi tidak perlu melakukan pengobatan konvensional [4]. Sebuah survei dari WHO menyatakan sebanyak 75-80% orang di dunia menggunakan kombinasi bahan alam sebagai pengobatan utama [3]. Bukti ilmiah keamanan jamu antihipertensi tidak sebanding dengan kepopuleran pengobatan antihipertensi menggunakan jamu [8].

Renin angiotensin aldosteron system (RAAS) berperan penting dalam terjadinya hipertensi [9]. Diawali dengan perubahan angiotensinogen yang dihasilkan oleh hati yang diubah menjadi angiotensin 1 dengan bantuan enzim renin yang dihasilkan oleh ginjal. Angiotensin 1 kemudian dipecah dengan bantuan Angiotensin converting enzyme (ACE) yang dihasilkan oleh paru-paru menjadi angiotensin 2. Angiotensin 2 kemudian akan berikatan dengan reseptor Angiotensin II tipe 1 (AGTR1 atau AT1) [8] yang banyak terdapat di otak, ginjal, jantung, pembuluh darah, dan kelenjar adrenal [10]. Ikatan angiotensin 2 dengan reseptor AGTR1 akan menimbulkan berbagai mekanisme yang berakibat meningkatnya tekanan pada pembuluh darah [11].

Jamu antihipertensi yang direkomendasikan oleh Komisi Nasional Sainifikasi Jamu [12] terdiri dari beberapa simplisia nabati seperti Imperatae rhizoma (alang-alang) [13], Centella herba (pegagan) [14], Pyllanthi herba (meniran) [15], Orhosiphonis folium (daun kumis kucing) [16], Curcumae rhizoma (temulawak) [17], dan Apii graviolentis (seledri) [18]. Pada penelitian

Masuk 07-07-2023

Revisi 21-07-2023

Diterima 07-08-2023

DOI: 10.20956/mff.v27i2.27045

## Korespondensi

Lusi Agus Setiani

lusi.setiani@unpak.ac.id

## Copyright

© 2023 Majalah Farmasi Farmakologi Fakultas Farmasi Makassar

Diterbitkan tanggal

31 Agustus 2023

Dapat Diakses Daring Pada:

<http://journal.unhas.ac.id/index.php/mff>



sebelumnya antihipertensi dengan komposisi seledri, pegagan, kumis kucing, temulawak, kunyit, dan meniran telah sampai pada tahap preklinik untuk toksisitas akut [19]. Hasil penelitian jamu dengan komposisi tersebut bersifat tidak toksik karena memiliki nilai LD50 50190 mg/kgBB hewan coba. Serta pada pengujian toksisitas kronis tahap uji klinik terhadap 40 orang selama 56 hari jamu dengan komposisi tersebut tidak bersifat nefrotoksik dan hepatotoksik, bahkan aktivitas jamu komposisi ini setara dengan antihipertensi golongan tiazid [20].

Parameter toksisitas akut dengan nilai LD50 umum digunakan untuk memprediksi toksisitas. Nilai LD50 menggambarkan kemampuan ligan untuk menyebabkan kematian pada 50% populasi hewan coba yang digunakan untuk penelitian [21]. Sedangkan untuk toksisitas kronis digolongkan menjadi beberapa akibat yang ditimbulkan seperti, nefrotoksik, hepatotoksik, karsinogen dan mutagen. Senyawa /ligan yang dapat menyebabkan kerusakan pada ginjal memiliki sifat nefrotoksik [22]. Senyawa yang dapat menyebabkan kerusakan hati bersifat nefrotoksik atau biasa dikenal dengan sebutan drug induced liver injury (DILI) [21]. Karsinogenik adalah sifat dari ligan yang dapat menyebabkan pertumbuhan sel yang abnormal. Mutagen adalah sifat dari ligan yang dapat menyebabkan perubahan susunan DNA secara permanen [23].

Dalam sebuah tanaman antihipertensi banyak mengandung metabolit sekunder yang dapat berinteraksi dengan berbagai reseptor secara bersamaan sehingga dapat menimbulkan potensi interaksi [24]. Jamu antihipertensi mengandung banyak senyawa (ligan) yang belum diketahui keamanannya [25], mengurangi waktu serta dana yang diperlukan [26], serta perbedaan tanaman yang digunakan juga menjadi dasar dilakukan penelitian prediksi interaksi senyawa jamu antihipertensi terhadap reseptor AGTR1 (PDB: 4ZUD) dan prediksi toksisitas senyawa dengan interaksi terbaik secara in silico dengan harapan dapat memberikan data keamanan senyawa bahan alam.

## METODE PENELITIAN

### Bahan

Data senyawa jamu antihipertensi diperoleh dari situs Knapsack dan IJAH Analytics, struktur 3D toksikan senyawa jamu antihipertensi dari situs PubChem, data fisikokimia ligan diperoleh dari situs Prottox II, dan struktur 3D reseptor AGTR1 dari situs PDB (ID: 4ZUD).

### Alat

Perangkat keras yang digunakan pada penelitian ini laptop merek Dell®, dengan OS Windows 11 Home, 64 bit, prosesor Intel core i5-1135G7, CPU @2.40 GHz, RAM 16,00 GB. Dengan software Microsoft Excel 2019, Discovery Drug Studio, Autodock Tools 1.5.6, Autodock 4.2, dan Toxtree 2.6. Situs yang digunakan Knapsack ([www.knapsackfamily.com](http://www.knapsackfamily.com)), IJAH Analytics (<http://ijah.apps.cs.ipb.ac.id/>), Protein Data Bank ([www.rcsb.org](http://www.rcsb.org)), PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), Online chemical database (Ochem) (<https://ochem.eu/article/140251>), dan Prottox II ([http://tox.charite.de/prottox\\_II](http://tox.charite.de/prottox_II)).

### Cara Kerja

#### Penapisan Lipinski Rule of Five (ROF)

Data canonical smiles ligan jamu antihipertensi yang diperoleh melalui situs IJAH Analytics dan Knapsack selanjutnya akan diskriminasi melalui situs Prottox II. Ligan yang dinyatakan memenuhi ROF adalah senyawa yang memiliki ketentuan berat molekul  $\leq 500$  Da, logaritma koefisien partisi

oktanol/air (LogP)  $\leq 5$ , hydrogen bond donor (HBD)  $\leq 5$ , hydrogen bond acceptor (HBA)  $\leq 10$ , dan refraksi molar 40-130 [27].

#### Preparasi Optimasi Ligan dan Reseptor

Struktur 3D reseptor diunduh melalui situs Protein Data Bank dengan PDB ID: 4ZUD. Preparasi dilakukan menggunakan software Autodock Tools 1.5.6 dengan cara menghilangkan molekul air, residu lain, dan ligan referensinya. Untuk optimasi dilakukan dengan cara menambahkan hidrogen, torsion tree, dan muatan gasteiger. Setelah itu reseptor dapat disimpan dalam format “.pdbqt” [28].

Struktur 3D ligan jamu antihipertensi diunduh melalui situs PubChem dalam format “.sdf”. Kemudian menggunakan Discovery Drug Studio ligan yang posisinya berjauhan akan didekatkan dengan reseptor, setelah itu ligan akan disimpan dalam format “.pdb”. Preparasi dan optimasi ligan format “.pdb” menggunakan software Autodock Tools 1.5.6 dengan menambahkan atom hidrogen, torsion tree, dan muatan gasteiger. Setelah dipreparasi dan dioptimasi ligan akan disimpan dalam format “.pdbqt”. Untuk ligan referensi yang telah dipisahkan dipreparasi dan dioptimasi dengan cara yang sama seperti preparasi ligan jamu antihipertensi [28].

#### Validasi penambatan ulang

Validasi dilakukan menggunakan software Autodock 4.2 untuk melakukan penambatan ulang (redocking) antara ligan referensi dengan reseptor. Sebelum menjalankan proses validasi ditentukan terlebih dahulu ukuran grid box, objek yang dibuat rigid, dan genetic algorithm sebanyak 10 kali. Hasil redocking dinyatakan valid jika diperoleh nilai Root Mean Square Deviation (RMSD)  $< 2\text{Å}$  [27].

#### Penambatan molekuler

Penambatan molekuler dilakukan menggunakan software Autodock 4.2 terhadap ligan jamu antihipertensi dengan reseptor. Untuk menjalankan penambatan menggunakan grid box yang telah dinyatakan valid dari proses redocking yaitu ukuran sumbu X:Y:Z adalah 34:34:34, grid spacing 0,375Å, dan ukuran central grid point X:Y:Z adalah -41,293:62,704:29,209. Kemudian dijalankan proses penambatan dengan reseptor yang dibuat rigid, dan genetic algorithm sebanyak 10 kali dan disimpan dalam format “.dpf”. Hasil penambatan dianalisa dengan cara memilih pose dengan nilai energi bebas Gibbs lebih negatif dan konstanta inhibisi yang lebih kecil dibandingkan dengan ligan referensi, serta ligan jamu mengikat sisi aktif yang sama seperti mengikat sisi aktif reseptornya.

#### Visualisasi Hasil Penambatan

Penggambaran hasil penambatan yang memiliki nilai energi terendah untuk melihat kesamaan asam amino yang berinteraksi dilakukan menggunakan Discovery Drug Studio dengan cara membuka file hasil penambatan dalam format “.pdb” kemudian klik receptor ligand interaction dan show 2D diagram [27].

#### Prediksi Toksisitas In Silico

Prediksi toksisitas dilakukan dengan memasukkan data canonical smiles dari senyawa yang memiliki interaksi terbaik pada masing-masing situs yang digunakan. Untuk memprediksi toksisitas akut dengan parameter LD50 menggunakan situs Prottox II. Setelah prediksi nilai LD50 diperoleh selanjutnya nilai tersebut diklasifikasikan menurut aturan globally harmonized system (GHS) pada Tabel 1. Prediksi toksisitas kronis parameter nefrotoksitas menggunakan situs Ochem, prediksi karsinogen dan mutagen menggunakan software Toxtree dengan parameter

Carcinogenicity (genotox and non genotox) and mutagenicity by ISS dan menggunakan fitur *In vitro* mutagenicity (ames test) alerts by ISS.

**Tabel 1.** KLASIFIKASI NILAI LD<sub>50</sub> [21]

Klasifikasi	LD <sub>50</sub> (mg/kg BB)
Supertoksik	< 5
Amat sangat toksik	5 - 50
Sangat toksik	50 - 500
Toksik	500 - 5000
Toksik ringan	5000 - 15000
Praktis tidak toksik	> 15000

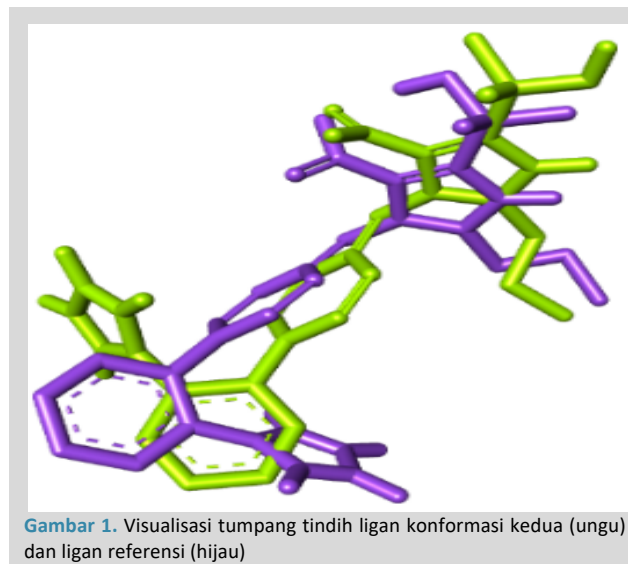
## HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari 196 senyawa jamu antihipertensi yang diperoleh melalui situs IJAH Analytics dan Knapsack selanjutnya akan dilakukan penapisan menggunakan ROF. Setelah dilakukan penapisan menggunakan ROF 126 senyawa diantaranya memenuhi aturan tersebut. Senyawa yang memenuhi ROF diprediksi memiliki biofarmasetika secara oral yang baik sehingga dapat dengan mudah diabsorpsi tubuh [29]. Adapun parameter ROF terdiri dari berat molekul  $\leq 500$  Da, logaritma koefisien partisi oktanol/air (LogP)  $\leq 5$ , hydrogen bond donor (HBD)  $\leq 5$ , hydrogen bond acceptor (HBA)  $\leq 10$ , dan refraksi molar 40-130 [27]. Berat molekul yang  $\geq 500$  Da menjadikan senyawa/ligan dengan ukuran yang cukup besar sehingga ligan akan sulit berdifusi dan terdistribusi [29]. LogP menyatakan lipofilisitas suatu ligan, ligan dengan nilai LogP  $\geq 5$  bersifat hidrofobik sehingga sulit untuk terdisolusi oleh cairan tubuh [29]. Ligan dengan nilai HBD  $\geq 5$  diprediksi bersifat polar yang membuat ligan kesulitan menembus membran lipid, sedangkan ligan dengan HBA  $\geq 10$  memiliki sifat nonpolar yang membuatnya sulit terdisolusi oleh cairan tubuh [30]. Nilai refraksi molar antara 40-130 menggambarkan kemampuan polarisasi ligan yang dipengaruhi oleh temperatur, tekanan, dan indeks bias [31].

Sebelum dilakukan penambatan ulang ligan referensi (olmesartan) dengan reseptor 4ZUD dan penambatan ligan uji dengan reseptor 4ZUD, terlebih dahulu ligan dan reseptor dipreparasi dan dioptimasi. Untuk melakukan penambatan ulang, preparasi dilakukan dengan memisahkan ligan referensi dari reseptor serta residu yang tidak diperlukan. Hal ini bertujuan supaya residu tidak mengganggu interaksi antara ligan referensi dengan reseptor [28]. Reseptor 4ZUD dioptimalkan dengan menambahkan atom hidrogen polar agar diperoleh penggambaran reseptor yang akurat menyerupai kondisi reseptor di dalam tubuh. Hal ini disebabkan bertambahnya atom hidrogen akan menurunkan Ph reseptor menjadi netral ( $\pm 7$ ). Selain ditambahkan atom hidrogen, ditambahkan juga muatan kollman yang berguna untuk Ph energi potensial elektrostatik berdasarkan perhitungan mekanika kuantum [32]. Selanjutnya ligan referensi dan ligan jamu antihipertensi juga dipreparasikan dengan menambahkan atom hidrogen agar dapat berikatan dengan reseptor membentuk interaksi hidrogen, penggabungan hidrogen nonpolar dan polar dilakukan karena hidrogen non polar dapat berikatan dengan reseptor dan penambahan muatan gasteiger dan torsi dilakukan untuk menyesuaikan kondisi ligan dengan lingkungan saat dilakukan penambatan [32].

Setelah dilakukan preparasi dan optimasi ligan referensi (olmesartan) dan reseptor selanjutnya dilakukan penambatan ulang atau redocking, pada tahap ini digunakan parameter RMSD dengan syarat nilai RMSD  $< 2\text{ \AA}$ . Jika nilai RMSD melewati nilai yang disyaratkan artinya metode dan grid yang digunakan untuk redocking kurang tepat sehingga belum bisa diaplikasikan untuk docking ligan uji [33]. Dari 10

konformasi redocking ligan referensi diperoleh nilai RMSD terkecil yaitu 0,22Å dari konformasi kedua (Tabel 1), semakin kecil nilai RMSD yang diperoleh artinya konformasi tersebut mampu memberikan penggambaran jarak interaksi dan bentuk yang menyerupai bentuk awal ligan referensinya. Hal tersebut dapat dilihat dengan melakukan visualisasi tumpang tindih pada ligan dengan konformasi dan ligan referensi (Gambar 1).



**Gambar 1.** Visualisasi tumpang tindih ligan konformasi kedua (ungu) dan ligan referensi (hijau)

Penambatan 126 ligan jamu antihipertensi menghasilkan 14 ligan dan dipilih 5 ligan (Tabel 2) dengan interaksi terbaik. Parameter yang digunakan pada untuk penambatan yaitu konstanta inhibisi (Ki) dan energi bebas Gibbs atau binding free energy ( $\Delta G$ ). Semakin kecil nilai Ki yang dihasilkan maka semakin baik kemampuan ligan tersebut dalam menginhibisi reseptor [34]. Nilai Ki yang berbeda dapat disebabkan perbedaan kemampuan ligan dalam menginhibisi reseptor [35]. Nilai  $\Delta G$  yang semakin negatif menunjukkan potensi senyawa untuk dikembangkan menjadi obat semakin besar, hal ini dikarenakan interaksi yang terbentuk adalah interaksi yang stabil, kuat, dan spontan. Ukuran ligan yang semakin besar dapat membuat seluruh permukaan ligan tidak berinteraksi dengan reseptor [36].

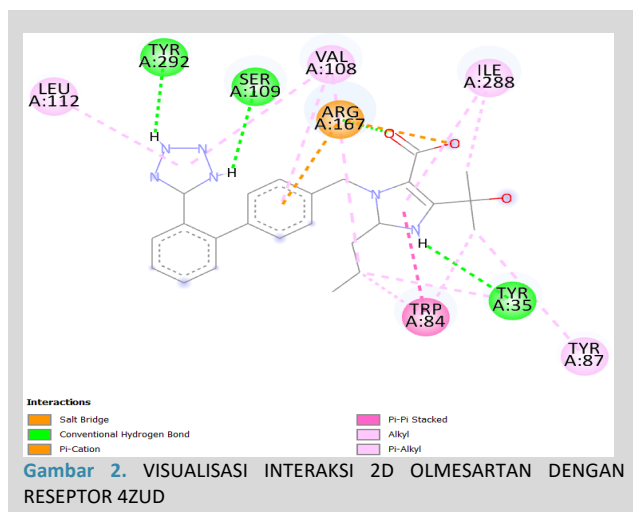
**Tabel 2.** HASIL PENAMBATAN ULANG

Konformasi	$\Delta G$ (Kkal/mol)	RMSD (Å)
1	-9,53	0,68
2	-9,46	0,22
3	-9,48	0,26
4	-9,54	0,66
5	-9,53	0,72
6	-9,49	0,77
7	-9,47	0,83
8	-8,99	0,46
9	-8,77	1,98
10	-9,45	0,63

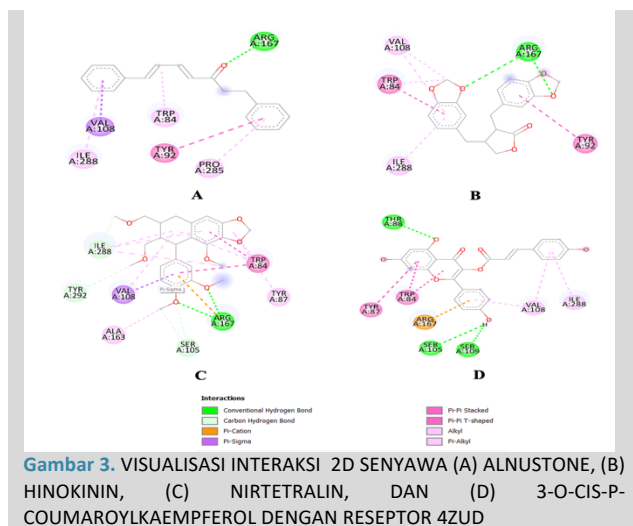
Dari hasil visualisasi diketahui olmesartan (Gambar 2) dan 5 ligan antihipertensi (Gambar 3) berikatan dengan asam amino yang sama dirangkum dalam Tabel 2. Kesamaan asam amino yang terlibat membuat kelima ligan memiliki peran sebagai antihipertensi dengan cara mengurangi kerja RAAS dan stres oksidatif dalam tubuh [37]. Olmesartan dalam penelitian ini dan penelitian sebelumnya berinteraksi dengan asam amino Arg167, Tyr35, dan Trp84 [38]. Terbentuk ikatan hidrogen karena masih adanya gugus OH dan NH, ikatan ini mampu menjaga kestabilan interaksi yang terbentuk [38]. Interaksi hidrogen dengan jarak yang semakin jauh menjadikan ikatan yang terbentuk semakin lemah. Pada penelitian ini asam amino Arg167 membentuk interaksi jembatan garam dan ikatan  $\pi$ -kation. Interaksi jembatan garam bukan terbentuk karena adanya molekul air melainkan



karena adanya gugus OH dan NH. Keberadaan gugus OH banyak terdapat pada asam nukleat Arg167 menyebabkan asam nukleat ini bersifat basa [39]. Interaksi jembatan garam ini menjadikan reseptor lebih stabil karena proton gugus karboksilat pada Arg167 dapat berpindah ke gugus amina pada ligan atau bisa juga karena asam amino dan ligan yang berinteraksi dalam bentuk terionisasi. Secara teori kekuatan interaksi  $\pi$ -kation lebih lemah dibandingkan dengan interaksi jembatan garam [40] sehingga resiko toksisitas pada  $\pi$ -kation lebih rendah. Interaksi  $\pi$ -kation ini dapat meningkatkan lipofilisitas, bioavailabilitas, dan afinitas bagi senyawa obat [41]. Lipofilisitas yang meningkat mengakibatkan ligan bersifat hidrofobik. Ligan dengan sifat hidrofobik ini sulit terdistribusi dari membran lipid menuju reseptor. Ligan yang tidak berikatan dengan reseptor ini akan terus berada dalam membran lipid sehingga potensi toksisitas akan meningkat [31].



Untuk interaksi yang terbentuk pada ligan jamu antihipertensi memiliki kesamaan seperti yang telah dijelaskan pada paragraf sebelumnya. Interaksi ligan jamu dengan reseptor membentuk ikatan dengan sifat hidrofobik, seperti ikatan  $\pi$ -kation,  $\pi$ -alkil,  $\pi$ -sigma, dan ikatan tumpukan  $\pi$ - $\pi$ . Ikatan  $\pi$ -kation dengan asam amino Arg167 pada gugus benzena senyawa Nirtetralin, Hypophyllanthin, dan 3-O-cis-p-coumaroylkaempferol yang hanya dapat terbentuk pada reseptor dengan penggambaran yang baik. Reseptor 4ZUD merupakan reseptor yang struktur secara keseluruhan dengan penggambaran tiap atom dengan tepat [42]. Secara teori interaksi  $\pi$ -kation lebih lemah dibandingkan dengan interaksi jembatan garam [40] sehingga resiko toksisitas pada senyawa yang membentuk interaksi  $\pi$ -kation lebih rendah. Interaksi  $\pi$ -kation ini dapat meningkatkan lipofilisitas, bioavailabilitas, dan afinitas bagi senyawa obat [41].



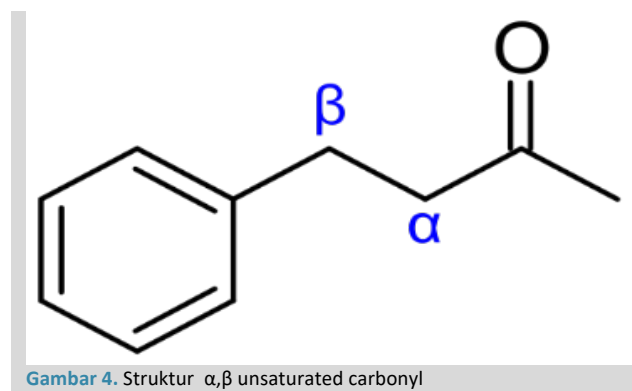
Kemudian terbentuk interaksi  $\pi$ -sigma antara Alnustone, Hypophyllanthin, dan Nirtetralin dengan asam amino Trp84, Val108, Ile288, dan Tyr35. Peran interaksi  $\pi$ -sigma adalah untuk menstabilkan muatan dalam menginterkalasi senyawa kedalam protein. Lalu terbentuk interaksi  $\pi$ -alkil pada setiap senyawa dengan beberapa asam amino. Interaksi  $\pi$ -alkil berperan meningkatkan interaksi pada ligan yang hidrofobik terhadap reseptor. Interaksi tumpukan  $\pi$ - $\pi$  antara asam amino Trp84, Tyr87, dan Tyr92 dengan senyawa berperan dalam meminimalkan energi bebas Gibbs karena kemampuannya meningkatkan elektrostatik [43].

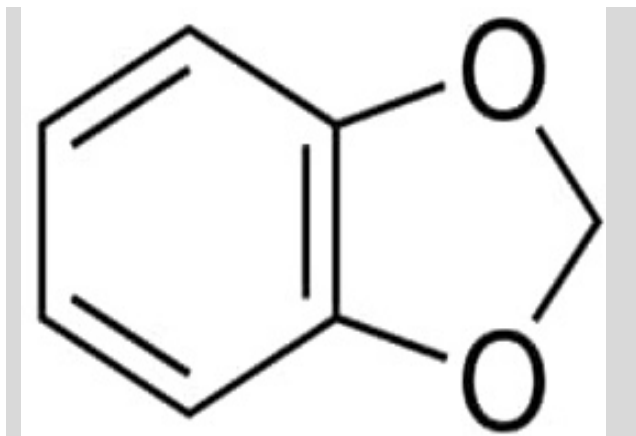
Pengujian toksisitas akut ligan jamu antihipertensi menunjukkan nilai LD50 yang semakin kecil menunjukkan toksisitas yang besar terhadap manusia [44]. Dari Tabel 3 diketahui nilai LD50 paling kecil dimiliki ligan hypophyllanthin dan nirtetralin termasuk sangat toksik dengan nilai prediksi 500 mg/kg BB hewan coba. ligan Alnustone dan hinokinin diprediksi bersifat toksik dengan prediksi nilai LD50 1500 dan 2000 mg/kg BB hewan coba. Nilai LD50 dapat digunakan untuk membandingkan potensi obat, dimana jika nilai LD50 yang kecil menunjukkan kemampuannya dengan dosis yang kecil dalam menyebabkan kematian 50% hewan coba. Selain itu dengan dosis yang kecil akan menimbulkan efek terapi [45].

**Tabel 3.** HASIL PENAMBAAN DAN VISUALISASI LIGAN DENGAN RESEPTOR

No	Tanaman	Senyawa	KI ( $\mu$ M)	$\Delta$ G (Kkal/mol)	Asam amino	Interaksi	Jarak interaksi
1		Olmesartan	100,95	-9,54	Arg167	Jembatan garam-dan hidrogen	3,34
					Tyr35	Hidrogen	2,78
					Trp84	Tumpukan $\pi$ - $\pi$	3,99
2	<i>Curcuma xanthorrhiza</i>	Alnustone	1,66	-7,89	Arg167	Hidrogen	2,02
					Trp84	$\pi$ -alkil	4,02
3	<i>Phyllanthus niruri</i>	Hypophyllanthin	3,16	-7,5	Arg167	$\pi$ -kation dan Hidrogen	3,26 2,15
					Tyr35	Hidrogen	3,87
					Trp84	$\pi$ -sigma $\pi$ -alkil	4,17
4	<i>Phyllanthus niruri</i>	Hinokinin	1,81	-7,83	Arg167	Hidrogen	2,17
					Trp84	$\pi$ -alkil	4,43
5	<i>Phyllanthus niruri</i>	Nirtetralin	2,2	-7,72	Arg167	Hidrogen	2,64
					Trp84	Tumpukan $\pi$ - $\pi$	4,89
6	<i>Centella asiatica</i>	3-O-cis-p-coumaroylkaempferol	1,88	-7,81	Trp84	Tumpukan $\pi$ - $\pi$	4,46
					Arg167	$\pi$ -kation	3,41

Pengujian toksisitas kronis secara in silico ligan jamu antihipertensi menunjukkan tidak ada ligan yang bersifat hepatotoksik, hasil yang sama dipeoleh seperti penelitian sebelumnya secara in vivo dan in vitro [19]. Ligan Alnustone dan 3-O-cis-p-coumaroylkaempferol diprediksi bersifat nefrotoksik. Namun pada penelitian sebelumnya yang dilakukan secara in vivo dan in vitro alnustone merupakan ligan dengan struktur diariheptanoid yang memiliki aktivitas antioksidan yang kuat sehingga mampu mencegah kerusakan ginjal. Ligan 3-O-cis-p-coumaroylkaempferol merupakan senyawa golongan flavonoid dengan kemampuan mengurangi kerusakan ginjal. Kerusakan ginjal yang dapat ditangani oleh 3-O-cis-p-coumaroylkaempferol adalah kerusakan ginjal yang disebabkan ROS (reactive oxygen species) [46].





Gambar 5. STRUKTUR 1,3-BENZODIOXOLE

Hasil prediksi toksisitas karsinogen alnustone yang diprediksi karsinogen genotoksik karena memiliki gugus  $\alpha,\beta$  unsaturated carbonyl (Gambar 4) yang menyebabkan kekurangan elektron sehingga sel yang mengalami kekurangan elektron akan berikatan dengan molekul yang mampu mengadisi elektron sehingga terjadi adisi pada DNA sehingga dapat dikatakan dapat menyebabkan kerusakan DNA secara langsung pada DNA. Ligan hypophyllanthin, hinokinin, dan nirtetralin diprediksi menyebabkan karsinogen non-genotoksik karena memiliki struktur 1,3-benzodioxole (Gambar 5) yang menyebabkan stres oksidatif pada sel, modulasi metabolisme enzim, atau induksi peroksisom sehingga menyebabkan perubahan susunan materi genetik dengan kata lain kerusakan DNA dengan bantuan enzim atau oksigen [47]. Namun pada penelitian *in vivo*, senyawa-senyawa tersebut tidak menyebabkan karsinogen baik dengan mekanisme genotoksik dan nongenotoksik [48], sebab ligan dengan 1,3-benzodioxole merupakan antioksidan yang cukup kuat [49].

Tabel 4. HASIL PREDIKSI TOKSISITAS *IN SILICO*

Tanaman	Senyawa	Prot	Toxtree		Protox	Ochem
		ox II	Karsinogen	Mutagen	II	
		LD <sub>50</sub> (mg/kg)			Hepatotoksik	Nefrotoksik
1	<i>Curcuma xanthorrhiza</i>	2000	Genotoksik	Ya	Tidak	Ya
2	<i>Phyllanthus niruri</i>	500	Non-genotoksik	Tidak	Tidak	Tidak
3	<i>Phyllanthus niruri</i>	1500	Non-genotoksik	Tidak	Tidak	Tidak
4	<i>Phyllanthus niruri</i>	500	Non-genotoksik	Tidak	Tidak	Tidak
5	<i>Centella asiatica</i>	5000	Tidak	Tidak	Tidak	Ya

Prediksi toksisitas kronis mutagenik pada ligan alnustone disebabkan adanya gugus  $\alpha,\beta$  unsaturated carbonyl (Gambar 4). Pada ligan alnustone yang diberikan pada tikus berperan sebagai anti inflamasi dengan cara menghambat produksi TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$  pada organ hati dan otot [50]. Gugus  $\alpha,\beta$  unsaturated carbonyl sendiri menghambat pembelahan sel kanker usus besar pada fase G0, G1, dan bahkan hingga menyebabkan apoptosis [51]. Ligan Alnustone juga dinyatakan sebagai kandidat obat yang potensial sebagai antikanker payudara [52].

## KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan senyawa dengan interaksi terbaik adalah alnustone, hinokinin, nirtetralin, 3-O-cis-p-coumaroylkaempferol, dan hypophyllanthin. Hypophyllanthin memiliki interaksi terbaik dengan nilai konstanta inhibisinya 3,16  $\mu\text{M}$ , energi bebas Gibbs ( $\Delta G$ ) -7,5 kkal/mol, dan berikatan dengan 12 asam amino. Dari kelima

senyawa tidak ada yang bersifat hepatotoksik; Senyawa alnustone diprediksi karsinogen mutagen; senyawa alnustone dan 3-O-cis-p-coumaroylkaempferol diprediksi nefrotoksik; serta senyawa hypophyllanthin dan nirtetralin diprediksi toksik dengan nilai LD50 500 mg.

## DAFTAR PUSTAKA

- D. M. Lloyd-Jones, *Hypertension: A Companion to Braunwald's Heart Disease*, 3rd ed. Philadelphia: Elsevier, 2017. doi: 10.1016/c2015-0-01752-x.
- Anies, *Penyakit Degeneratif: Mencegah dan Mengatasi Penyakit Degeneratif dengan Perilaku dan Pola Hidup Modern yang Sehat*, 1st ed. Yogyakarta: Ar-Ruzz Media, 2018.
- World Health Organization, "Hypertension: What is Hypertension?," 2021. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hypertension> (accessed Mar. 11, 2022).
- Kementerian Kesehatan RI, "Hipertensi Penyakit Paling Banyak Diidap Masyarakat," Biro Komunikasi dan Pelayanan Masyarakat, Kementerian Kesehatan RI, 2019. <https://www.kemkes.go.id/article/view/19051700002/hipertensi-penyakit-paling-banyak-diidap-masyarakat.html> (accessed Mar. 11, 2022).
- S. Steddon, A. Chesser, J. Cunningham, and N. Ashman, *Oxford Handbook of Nephrology and Hypertension*. 2014. doi: 10.1093/med/9780199651610.001.0001.
- Y. G. Tedla and L. E. Bautista, "Drug Side Effect Symptoms and Adherence to Antihypertensive Medication," *Am. J. Hypertens.*, vol. 29, no. 6, pp. 772-779, 2016, doi: 10.1093/ajh/hpv185.
- O. Adi Parwata, "Obat Tradisional," Bali, 2016.
- N. Laili, *Terapi Alternatif Komplementer pada Pasien Hipertensi dalam Perspektif Keperawatan*. Yogyakarta: Deepublish, 2020.
- K. E. Bernstein, J. F. Giani, X. Z. Shen, and R. A. V. Gonzalez, "Renal angiotensin-converting enzyme and blood pressure control," *NIH Public Access*, vol. 23, pp. 106-112, 2014.
- J. T. Dipiro, G. C. Yee, L. M. Posey, S. T. Haines, T. D. Nolin, and V. Ellingrod, *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach*, 11th Edition, 11th ed., vol. 40, no. 9. McGraw Hill, 2020. doi: 10.1345/aph.1h160.
- H. Zhang et al., "Structure of the angiotensin receptor revealed by serial femtosecond crystallography," *Cell*, vol. 161, no. 4, pp. 833-844, 2015, doi: 10.1016/j.cell.2015.04.011.
- Supriyatna, Moelyono, Y. Iskandar, and R. M. Febriyanti, *Mengenal Obat Herbal: Pemahaman Obat Herbal Untuk Fitoterapi*. Bandung: Unpad Press, 2013.
- S. Paramita, R. Isnwardana, M. K. Nuryanto, R. Djalung, D. G. Rachmawatingtyas, and P. Jayastri, "POLA PENGGUNAAN OBAT BAHAN ALAM SEBAGAI TERAPI KOMPLEMENTER PADA PASIEN HIPERTENSI DI PUSKESMAS," *J. Sains dan Kesehat.*, vol. 1, no. 7, pp. 367-376, Jun. 2017, doi: 10.25026/jsk.v1i7.56.
- U. Nisa, U. Fitriani, and E. Wijayanti, "The activities of Indonesian bay-leaves, centella herbs, blady-grass roots and nutmeg seeds as herbal formulation hypertensive rats induced by prednisone and salt," *J. Kefarmasian Indones.*, vol. 7, no. 2, pp. 87-94, 2017.
- I. Ahmad, "Molecular Docking Studies of Active Compounds from *Phyllanthus niruri* with Angiotensin-Converting Enzyme Inhibition," vol. 14, no. 58, 2019.
- Emelda, "TOKSISITAS KUMIS KUCING (*Orthosiphon stamineus*) SEBAGAI ANTI HIPERTENSI," *J. Kefarmasian Akfarindo*, vol. 2, pp. 13-18, 2017, [Online]. Available: <http://jofar.afii.ac.id/index.php/jofar/article/view/16>
- S. S. Al Disi, M. A. Anwar, and A. H. Eid, "Anti-hypertensive herbs and their mechanisms of action: Part I," *Front. Pharmacol.*, vol. 6, pp. 1-24, 2016, doi: 10.3389/fphar.2015.00323.
- H. L. Gao et al., "Apigenin Improves Hypertension and Cardiac Hypertrophy Through Modulating NADPH Oxidase-Dependent ROS Generation and Cytokines in Hypothalamic Paraventricular Nucleus," *Cardiovasc. Toxicol.*, vol. 21, no. 9, pp. 721-736, 2021, doi: 10.1007/s12012-021-09662-1.
- M. W. Winarno, L. Widowati, and D. Sundari, "Studi Keamanan Ramuan Jamu untuk Hiperurisemia dan Hipertensi," *Bul. Penelit. Kesehat.*, vol. 43, no. 3, 2015, doi: 10.22435/bpk.v43i3.4341.137-146.
- A. Triyono, Z. Zulkarnain, and T. A. Mana, "Studi Klinis Ramuan Jamu Antihipertensi pada Pasien Hipertensi Derajat I," 2018. doi: 10.22435/jki.v8i1.6443.17-25.
- M. Rahayu and M. F. Solihat, *Toksikologi Klinik*, vol. 7, no. 1. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI, 2018. [Online]. Available: [https://www.researchgate.net/publication/269107473\\_What\\_is\\_governance/link/548173090cf22525dcb61443/download%0Ahttp://www.econ.upf.edu/~reynal/Civilwars\\_12December2010.pdf%0Ahttps://think-asia.org/handle/11540/8282%0Ahttps://www.jstor.org/stable/41857625](https://www.researchgate.net/publication/269107473_What_is_governance/link/548173090cf22525dcb61443/download%0Ahttp://www.econ.upf.edu/~reynal/Civilwars_12December2010.pdf%0Ahttps://think-asia.org/handle/11540/8282%0Ahttps://www.jstor.org/stable/41857625)
- M. Al-Naimi, H. Rasheed, N. Hussien, H. Al-Kuraishy, and A. Al-Gareeb, "Nephrotoxicity: Role and significance of renal biomarkers in the early detection of acute renal injury," *J. Adv. Pharm. Technol. Res.*, vol. 10, no. 3, pp. 95-99, 2019, doi: 10.4103/japtr/JAPTR\_336\_18.
- N. G. Bakhtyari, G. Raitano, E. Benfenati, T. Martin, and D. Young, "Comparison of *in silico* models for prediction of mutagenicity," *J.*

- Environ. Sci. Heal. - Part C Environ. Carcinog. Ecotoxicol. Rev., vol. 31, no. 1, pp. 45–66, 2013, doi: 10.1080/10590501.2013.763576.
24. S. Y. Pan et al., "New perspectives on how to discover drugs from herbal medicines: CAM'S outstanding contribution to modern therapeutics," Evidence-based Complement. Altern. Med., vol. 2013, 2013, doi: 10.1155/2013/627375.
  25. V. Aprilla Handayani, F. Mochamad Afendi, and W. Ananta Kusuma, "Pengkuraian Mekanisme Kerja Jamu Berdasarkan Jejaring Bahan Aktif-Protein Target-Gene Ontology," J. Jamu Indones., vol. 1, no. 3, pp. 18–28, 2016, doi: 10.29244/jjdn.v1i3.30640.
  26. K. Sachdev and M. K. Gupta, "A comprehensive review of feature based methods for drug target interaction prediction," J. Biomed. Inform., vol. 93, no. November 2018, p. 103159, 2019, doi: 10.1016/j.jbi.2019.103159.
  27. S. Khaerunnisa, Suhartati, and R. Awaludin, Penelitian In Silico Untuk Pemula. Surabaya: Airlangga University Press, 2020.
  28. S. M. Rizvi, S. Shazi, and H. Mohd., "A simple click by click protocol to perform docking:," EXCLI J., vol. 12, pp. 831–857, 2013.
  29. N. C. Cavasotto, In Silico Drug Discovery and Design Theory, Methods, Challenges, and Applications. CRC Press, 2016.
  30. R. Ruslami and E. Rohmawati, Farmakologi Dasar. Jakarta: EGC, 2017.
  31. R. Ruswanto, R. Mardianingrum, and A. Yanuar, "Computational Studies of Thiourea Derivatives as Anticancer Candidates through Inhibition of Sirtuin-1 (SIRT1)," J. Kim. Sains dan Apl., vol. 25, no. 3, pp. 87–96, 2022, doi: 10.14710/jksa.25.3.87-96.
  32. J. Kolina, S. A. Sumiwi, and J. Levita, "MODE IKATAN METABOLIT SEKUNDER DI TANAMAN AKAR KUNING (Arcangelisia flava L.) DENGAN NITRAT OKSIDA SINTASE," FITOFARMAKA J. Ilm. Farm., vol. 8, no. 1, pp. 45–52, 2019, doi: 10.33751/jf.v8i1.1171.
  33. R. Rollando, "Pendekatan Struktur Aktivitas dan Penambatan Molekul Senyawa 2-iminoethyl 2-(2-(1-hydroxypentan-2-yl) phenyl)acetate Hasil Isolasi Fungi Endofit Genus Fusarium sp pada Enzim  $\beta$ -ketoasil-ACP KasA Sintase dan Enzim Asam Mikolat Siklopropana Sintase," Pharm. J. Indones., vol. 3, no. 2, pp. 45–51, 2018, doi: 10.21776/ub.pji.2017.003.02.2.
  34. M. Umamaheswari, A. Madeswaran, and K. Asokkumar, "Virtual screening analysis and in-vitro xanthine oxidase inhibitory activity of some commercially available flavonoids," Iran. J. Pharm. Res., vol. 12, no. 3, pp. 317–323, 2013.
  35. Z. Cournia, B. Allen, and W. Sherman, "Relative Binding Free Energy Calculations in Drug Discovery: Recent Advances and Practical Considerations," J. Chem. Inf. Model., vol. 57, no. 12, pp. 2911–2937, 2017, doi: 10.1021/acs.jcim.7b00564.
  36. Muchtaridi, A. Yanuar, S. Megantara, and H. Purnomo, Kimia Medisinal Dasar-Dasar dalam Perancangan Obat, 1st ed. Jakarta: Prenada Group, 2018.
  37. S. H. Sawant and S. L. Bodhankar, "Flax lignan concentrate attenuate hypertension and abnormal left ventricular contractility via modulation of endogenous biomarkers in two-kidney-one-clip (2K1C) hypertensive rats," Rev. Bras. Farmacogn., vol. 26, no. 5, pp. 601–610, 2016, doi: 10.1016/j.bjpp.2016.05.005.
  38. H. Zhang et al., "Structural basis for ligand recognition and functional selectivity at angiotensin receptor," J. Biol. Chem., vol. 290, no. 49, pp. 29127–29139, 2015, doi: 10.1074/jbc.M115.689000.
  39. J. Uranga, J. I. Mujika, R. Grande-Aztatzi, and J. M. Matxain, "Oxidation of Acid, Base, and Amide Side-Chain Amino Acid Derivatives via Hydroxyl Radical," J. Phys. Chem. B, vol. 122, no. 19, pp. 4956–4971, 2018, doi: 10.1021/acs.jpch.7b12450.
  40. D. T. Infield, A. Rasouli, G. D. Galles, C. Chipot, E. Tajkhorshid, and C. A. Ahern, "Cation- $\pi$  Interactions and their Functional Roles in Membrane Proteins: Cation- $\pi$  interactions in membrane proteins," J. Mol. Biol., vol. 433, no. 17, p. 167035, 2021, doi: 10.1016/j.jmb.2021.167035.
  41. Z. Liang and Q. X. Li, " $\pi$ -Cation Interactions in Molecular Recognition: Perspectives on Pharmaceuticals and Pesticides," J. Agric. Food Chem., vol. 66, no. 13, pp. 3315–3323, 2018, doi: 10.1021/acs.jafc.8b00758.
  42. A. Schirò et al., "On the complementarity of X-ray and NMR data," J. Struct. Biol. X, vol. 4, no. December 2019, p. 100019, 2020, doi: 10.1016/j.jysbx.2020.100019.
  43. M. J. A. Bernaldez, J. B. Billones, and A. Magpantay, "In silico analysis of binding interactions between GSK983 and human DHODH through docking and molecular dynamics," AIP Conf. Proc., vol. 2045, no. December 2018, 2018, doi: 10.1063/1.5080886.
  44. B. Lestari, S. Soeharto, Nurdiana, U. Kulsum, and N. Permatasari, Buku Ajar Farmakologi Dasar, 1st ed. Malang: UB Press, 2017.
  45. G. F. Nordberg and M. Costa, Handbook on the Toxicology of Metals: Fifth Edition, vol. 2. 2021.
  46. F. Vargas et al., "Flavonoids in Kidney Health and Disease," vol. 9, no. April, pp. 1–12, 2018, doi: 10.3389/fphys.2018.00394.
  47. T. Nohmi, "Thresholds of genotoxic and non-genotoxic carcinogens," Toxicol. Res., vol. 34, no. 4, pp. 281–290, 2018, doi: 10.5487/TR.2018.34.4.281.
  48. F. M. de Queiroz, K. W. de Oliveira Matias, M. M. F. da Cunha, and A. Schwarz, "Evaluation of (anti)genotoxic activities of Phyllanthus niruri L. in rat bone marrow using the micronucleus test," Brazilian J. Pharm. Sci., vol. 49, no. 1, pp. 137–148, 2013, doi: 10.1590/s1984-82502013000100015.
  49. M. Hawash et al., "Synthesis and Biological Evaluation of Benzodioxole Derivatives as Potential Anticancer and Antioxidant agents," Heterocycl. Commun., vol. 26, no. 1, pp. 157–167, 2020, doi: 10.1515/hc-2020-0105.
  50. M. M. Rahaman et al., "The genus curcuma and inflammation: Overview of the pharmacological perspectives," Plants, vol. 10, no. 1, pp. 1–19, 2021, doi: 10.3390/plants10010063.
  51. P. P. Putra, A. Fauzana, and H. Lucida, "In Silico Analysis of Physical-Chemical Properties, Target Potential, and Toxicology of Pure Compounds from Natural Products Analisis Sifat Fisika-Kimia, Potensi Target dan Toksikologi Senyawa Isolat Murni dari Bahan Alam dengan Metode In Silico," Indones. J. Pharm. Sci. Technol. J. Homepage, vol. 7, no. 3, pp. 107–117, 2020, [Online]. Available: <http://jurnal.unpad.ac.id/ijpst/UNPAD>
  52. K. K. Ü. Glu, H. S. Inti, A. Özgür, H. Seçen, and Y. Tutar, "Synthesis, molecular docking, and antitumoral activity of alnustone-like compounds against estrogen receptor alpha-positive human breast cancer," Turkish J. Chem., vol. 39, no. 1, pp. 179–193, 2015, doi: 10.3906/kim-1408-72