

DAFTAR PUSTAKA

1. *Riset Kesehatan Dasar*. **Kemenkes , Republik Indonesia**. 2018.
2. **R, Harvey dan C, Champe P**. *Farmakologi Ulasan Bergambar*. Jakarta : EGC, 2009.
3. *MIKROENKAPSULASI EKSTRAK FORMULA PEGAGAN-KUMIS KUCING-SAMBILOTO SEBAGAI INHIBITOR Angiotensi I Converting Enzyme SECARA In Vitro*. **Ismarani, Pradono, Dyah Iswantini dan Darusman, Latifah K**. 1, s.l. : Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah, 2011, Vol. III.
4. **Sjamsul, Achmad Arifin, Euic, Hakim Holisotan dan Lukman, Makmus**. *Ilmu Kimia dan Kegunaan Tumbuh-Tumbuhan Obat Indonesia*. Bandung : ITB, 2009.
5. *Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development*. **Lipinski, Christopher A, et al**. 3-26, USA : Advanced Drug Delivery Reviews , 2001, Vol. XLVI.
6. *The Benigni/Bossa rulebase for mutagenicity and carcinogenity a module of Toxtree*. **Benigni, Romualdo, et al**. Italy : European Commission, 2008.
7. *Penambatan Senyawa Komponen Tanaman Kumis Kucing (Orthosiphon stamineus Benth) sebagai Diuretik Menggunakan Metode Docking*. **Hasbi, Fatwa, Amin, Saeful dan Nofianti, Tita**. Tasikmalaya : STIKES Bakti Husada.
8. *Study Molecular Docking, Molecular Dynamic Dan Prediksi Toksisitas Senyawa Turunan Alkaloid Naftiridin Inhibitor Protein Kasein Kinase 2- a Pada Kanker Leukimia*. **Muttaqin, Fauzan Zein, Ismail, Halim dan Hubbi, Muhammad Nasrullah**. s.l. : Pharmaoscript, 2019.
9. *MOLECULAR DOCKING STUDY OF XANTHONE DERIVATE COMPOUNDS OF MANGOSTEEN RIND (Garcinia mangostana L.) TO ESTROGEN RECEPTOR ALFA AND ESTROGEN RECEPTOR BETA AS ANTI-BREASTCANCER*. **Prasetiawati, Riska, et al**. s.l. : Jurnal Farmakobahari, 2018.
10. *Antihypertensive Testing of Combination of Apium graveolans L., Orthosiphon stamineus Benth., and Morinda citrifolia L extract on Normotensive*

and Hypertensive Sprague Dawley Rats. **Rumiyati, et al.** Yogyakarta : Universitas Gadjah Mada, 2016, Vol. XXI. ISSN : 1410-5918.

11. *PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK DAUN CENGKEH (Syzgium aromaticum (L.) Merr & Perry).* **Wahyulianingsih, Handayani, Selpida dan Malik, Abd.** 2, s.l. : Jurnal Fitofarmaka Indonesia, 2016, Vol. III.

12. **Hardman, Joel G, Limbird, Lee E. dan Gilman, Alfred Goodman.** *Dasar Farmakolog Terapi* . s.l. : EGC, 2002.

13. **Shargel, Leon.** *Bofarmasetika dan Farmakokinetika Terapan.* Surabaya : Pusat Penerbitan dan Percetakan Universitas Airlangga, 2012.

14. **E.Y, Sukandar, et al.** *ISO Farmakoterapi.* Jakarta : PT ISFI Penerbitan, 2008.

15. *Molecular Docking Algoritma.* **Raquel, Dias dan Jr., Walker Filgueria De Azevedo.** s.l. : Current Drug Targets, 2009.

16. **Siswandono dan B, Soekardjo.** *Prinsip-Prinsip Rancangan Obat.* Surabaya : Airlangga Univercity Press, 1998.

17. *Study Penambatan Molecular Senyawa Scopoletin Dari Buah Mengkudu (Morinda Carifolia L.) Pada Enzim ACE Sebagai Antihipertensi.* **Praja, Randi Adi, Pratiwi, Dina dan Nuraini.** 1, s.l. : Jurnal Farmagazine, 2018, Vol. V.

18. **Sri Fatmawati, S.Si., Ph.D., Devi Anggraeni P, S.Si., M.Si., dan Rose Malna Annur, S.Si., M.Si.,** *Bioaktivitas dan Konstitun Kimia Tanaman Obat Indonesia* . Yogyakarta : CV Budi Utama, 2019.

19. *From Ethnopharmacology To Clinical Study Of Orthosiphon Stamineus Benth.* **Adnyana, I Ketut, Setiawati, Finna dan Insanu, Muhammad.** 3, s.l. : International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Selences, 2013, Vol. V. ISSN.

20. *Karakteristik Morfologi Tanaman Kencur (Kaemferia galanga L.) dan Aktivitas Farmakologi.* **Soleh, Sandra Megantara.** 2019, Farmaka , hal. 256-262.

21. *Simulasi Dinamika Molekular Reseptor Estrogen Alfa dengan Andrografolid sebagai Antikanker Payudara.* **Dermawan, Doni, Sumirtanurdin, Riyadi dan Dewantisari, Deti.** Bandung : Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology, 2019.

22. *Isolation antyhipertensive activity and structure activity relationship of flavonoid from three medical plants.* **Baher, Ahmed, Al-Howiriny, Taweq dan**

Mossa, Jaber S. 400-404, Saudi Arabia : Indian Jurna of Chemistry, 2004, Vol. 44b.

23. *Studi Penambatan Molekul Senyawa-Senyawa Amidasu etil Para Metoksisinamat Pada Poleferator-Activated Reseptor Gamma (PPAR γ)*. **Apriani, F.** Jakarta : s.n., 2015.

24. *Review Jurnal : Klasifikasi dan Aktivitas Farmakologi dari Senyawa Katif Flavonoid*. **Alfaridz, Faizal dan Amalia, Riezki.** 3, Sumedang : Farmaka , 2016, Vol. XVI.

25. *Mekanisme Angiotensin Converting Enzyme Flavonoid Hipertensi*. **Widiasari, Santi.** 2, Riau, Indonesia : Collaborative Medical Journal, 2018, Vol. I.

26. *Isolation, Antihypertensive Activity and Structure Activity Relationship of Flavonoid from Three*. **Bahar, Ahmed, et al.** 478-494, Saudi Arabia : Indian Jurnal of Chemistry, 2004, Vol. XL.

27. *Synthesis, Characterization, Anticancer And In silico ADME Properties Of*. **Galuh, Widiyarti, et al.** Banten, Indonesia : Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology, 2019.

28. *BDDCS the Rule of 5 and drugability*. **Benet, Leslie Z, et al.** USA : Advanced Drug Delivery Reviews, 2016.

29. **Fatmawati, Sri, Anggraeni, Devi dan Annur, Rose Malna.** *Bioaktivitas dan Konstituen Kimia Tanaman Obat Indonesia*. Yogyakarta : CV. Budi Utama, 2019.

30. *Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strateiges*. **Ferreira, Leonardo G, Santos, Ricardo dan Oliva, Glaucius.** Brazil : Molecules, 2015.

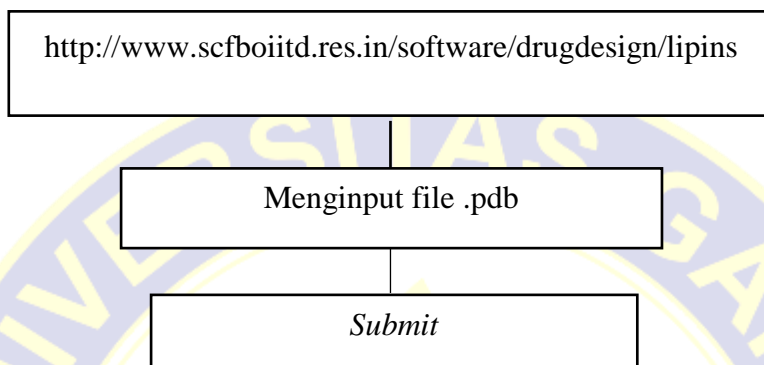
LAMPIRAN 1

TANAMAN KUMIS KUCING

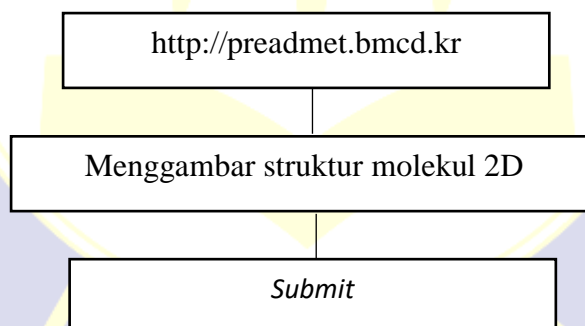


Gambar II.1 Tanaman kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth.)

LAMPIRAN 2
ALUR PENELITIAN



Gambar IV.3 Analisis Lipinski's Rule of Five



Gambar IV.3 Analisis Pre-ADME dan toksisitas

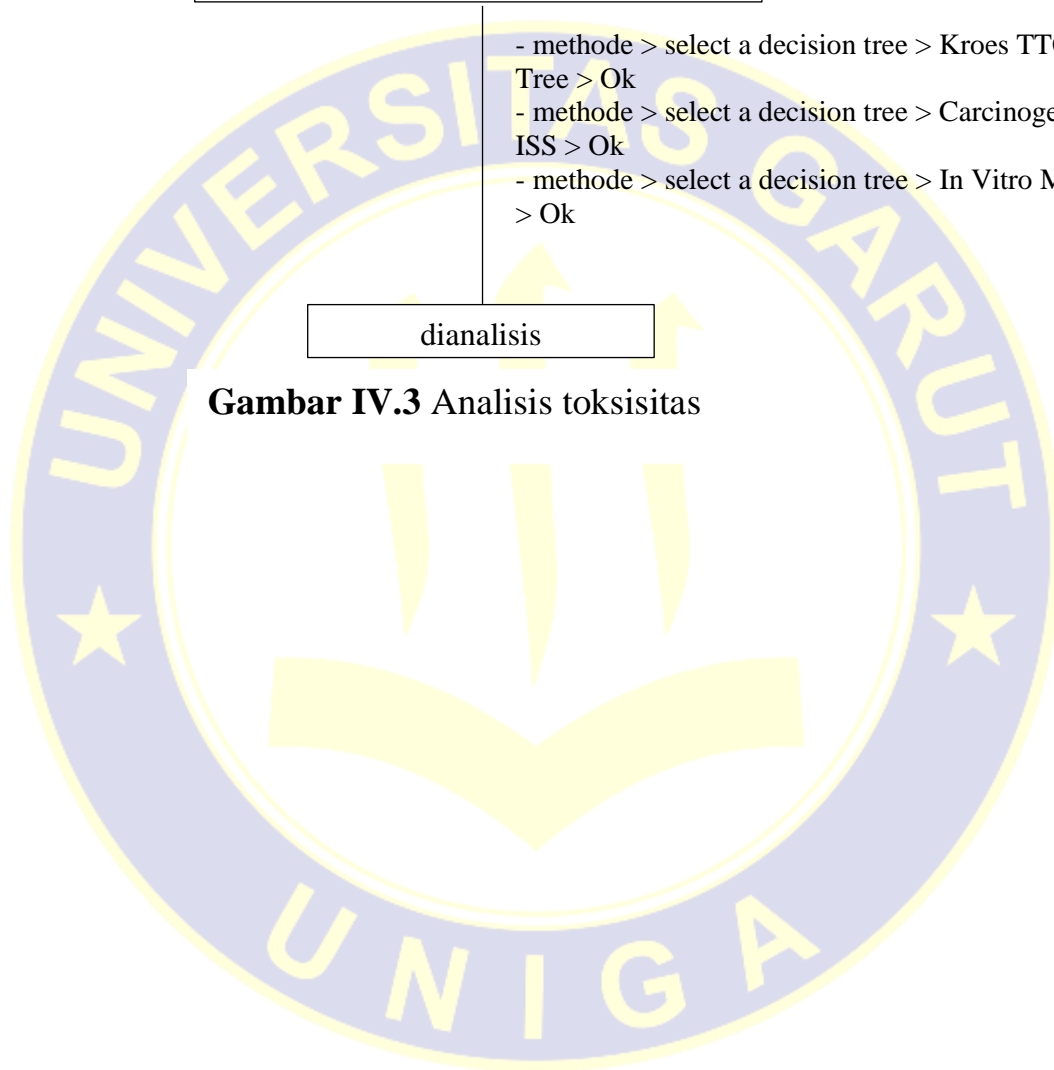
LAMPIRAN 2**(LANJUTAN)**

Memasukan canonical smiles senyawa

- metode > select a decision tree > Kroes TTC decision Tree > Ok
- metode > select a decision tree > Carcinogenicity by ISS > Ok
- metode > select a decision tree > In Vitro Mutagenicity > Ok

dianalisis

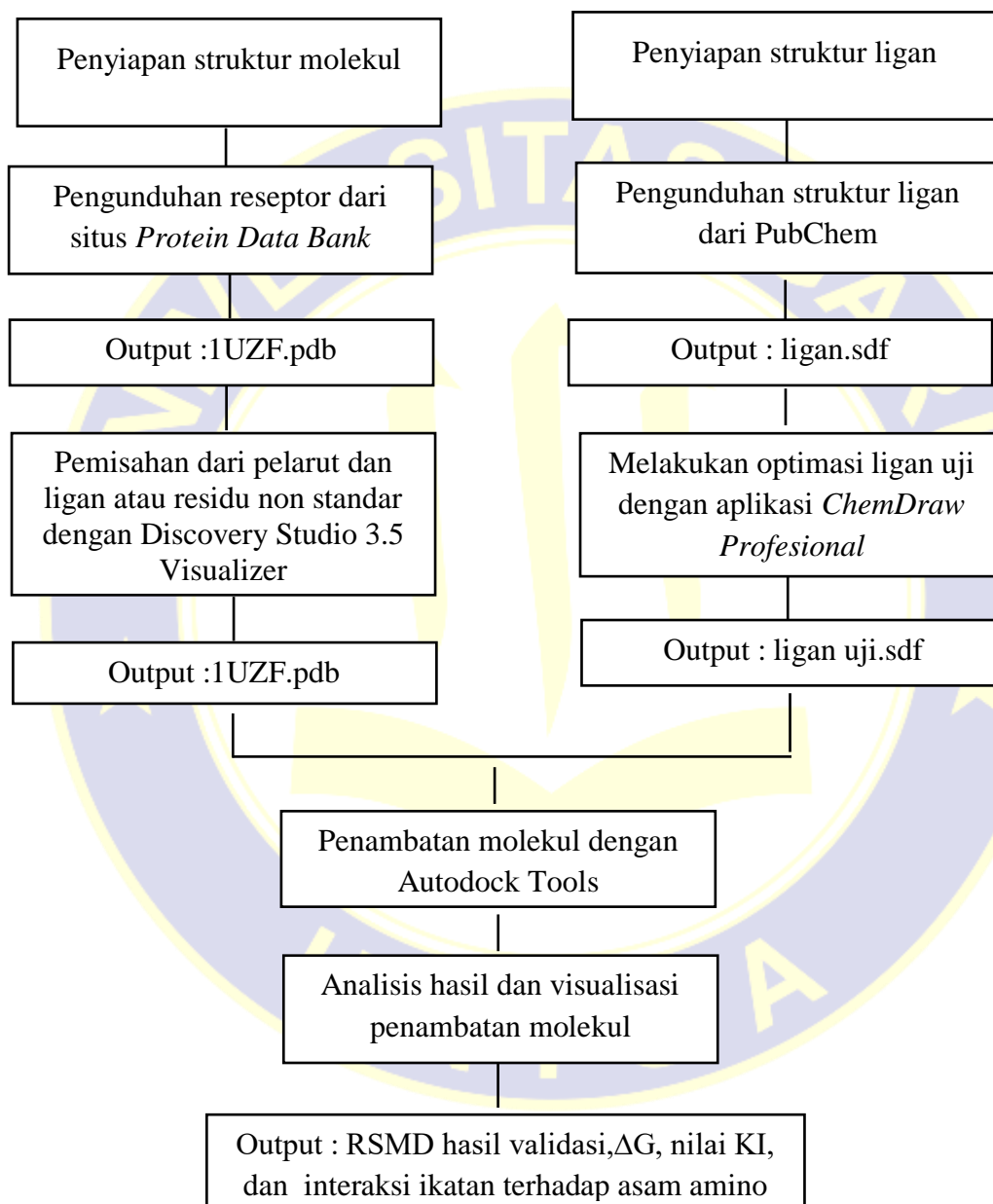
Gambar IV.3 Analisis toksisitas



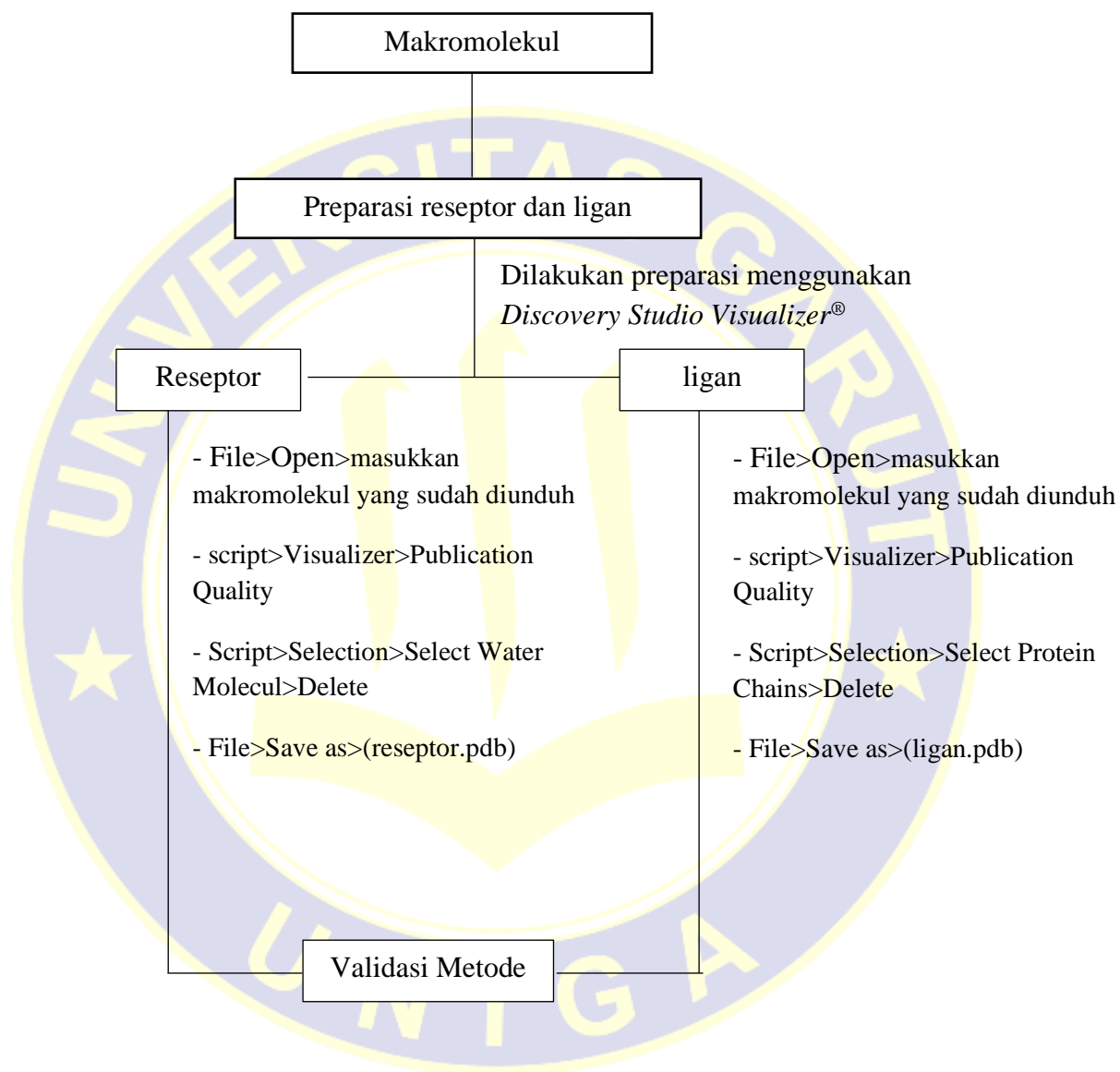
LAMPIRAN 2

(LANJUTAN)

ALUR PENELITIAN PENAMBATAN MOLEKUL

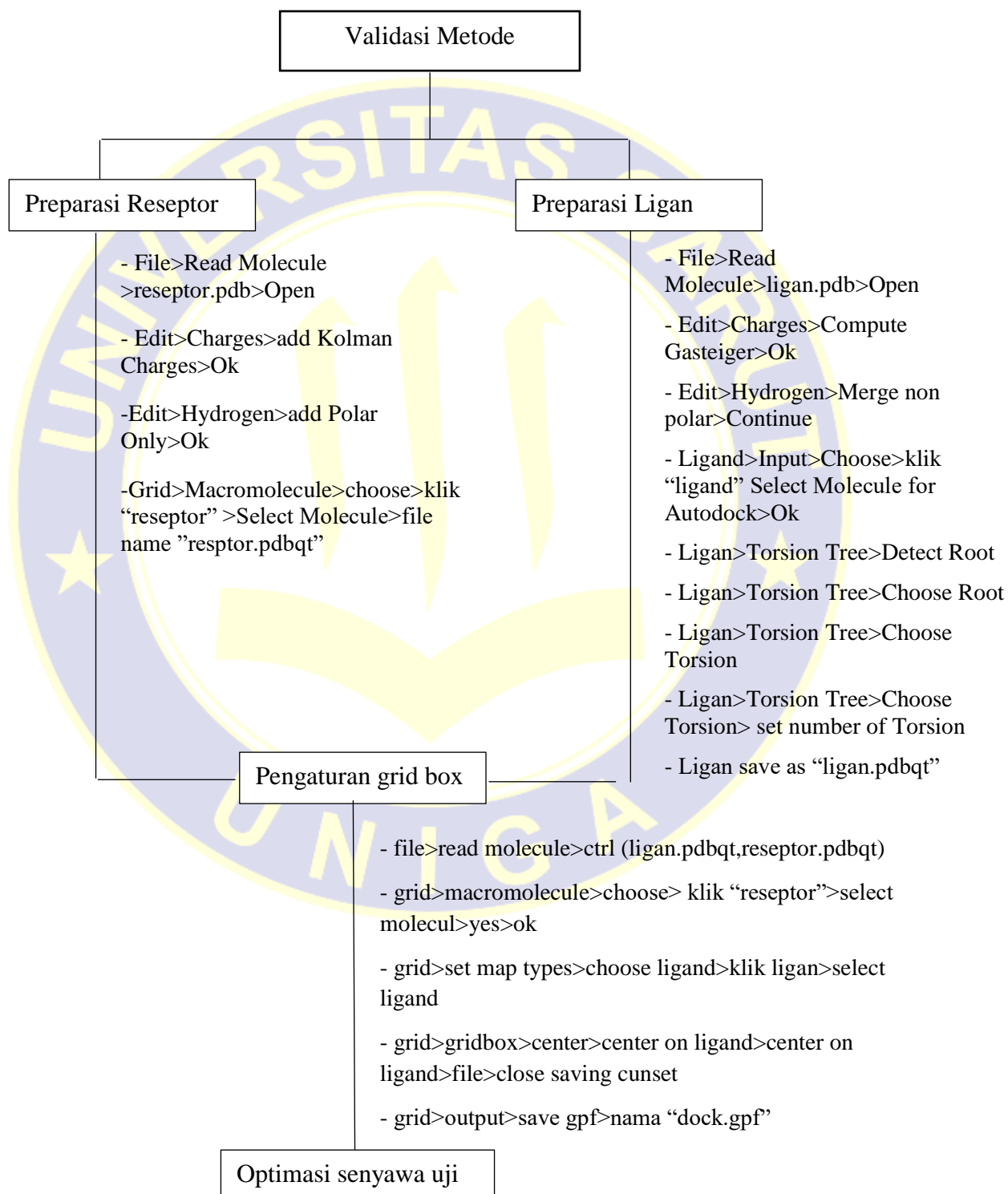


Gambar IV.3 Gambar bagan alur penelitian penambatan molekul

LAMPIRAN 2**(LANJUTAN)**

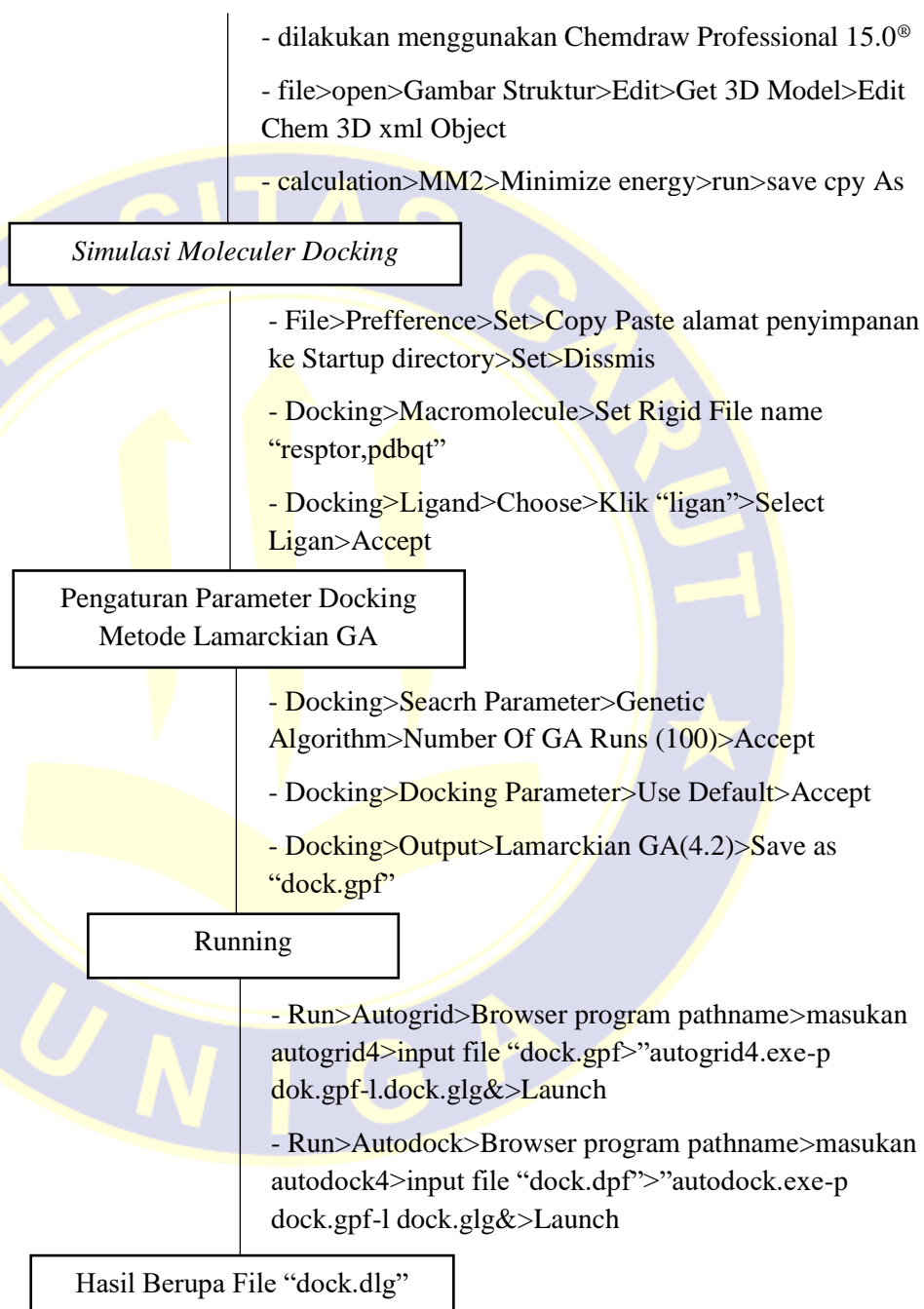
LAMPIRAN 2

(LANJUTAN)



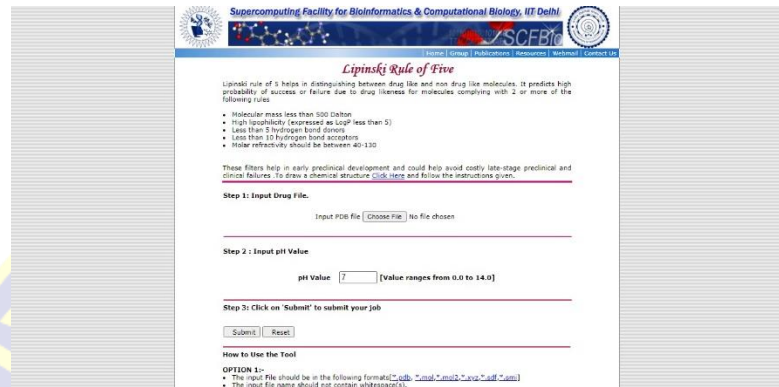
LAMPIRAN 2

(LANJUTAN)

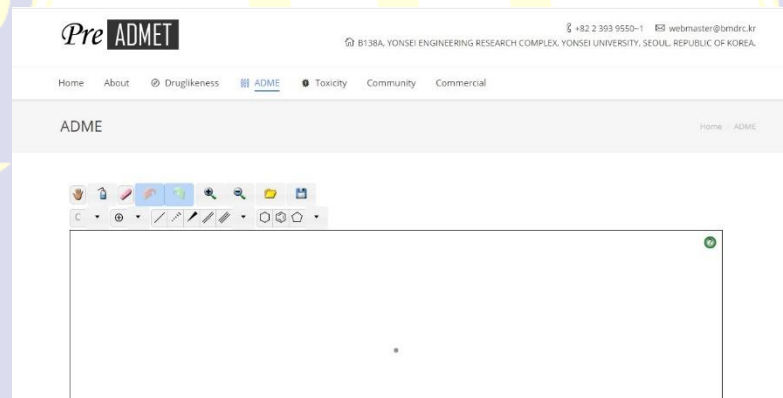


LAMPIRAN 3

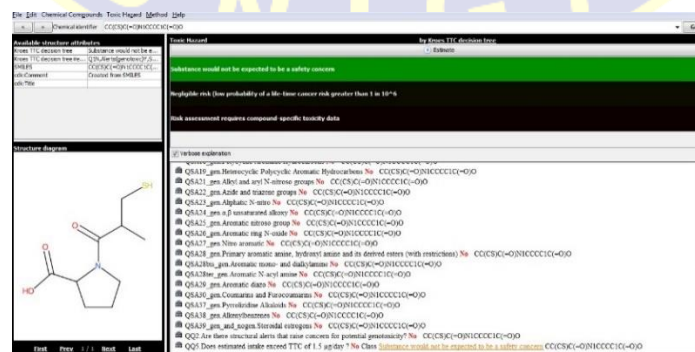
SITUS DAN APLIKASI



Gambar situs online *Lipinski's Rule of Five*



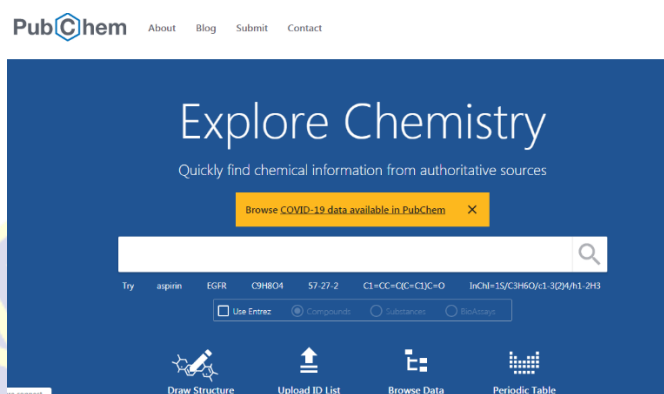
Gambar situs online *Pre-ADMET*



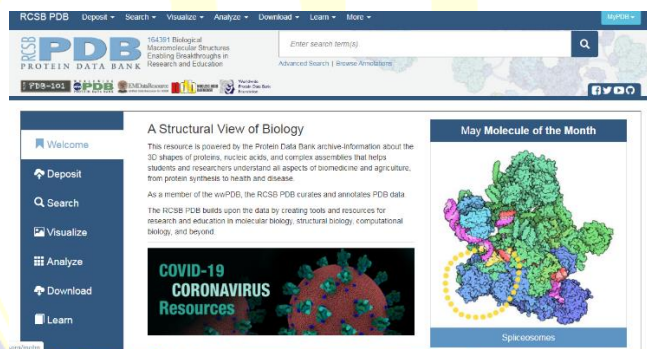
Gambar Program *ToxTree*

LAMPIRAN 3

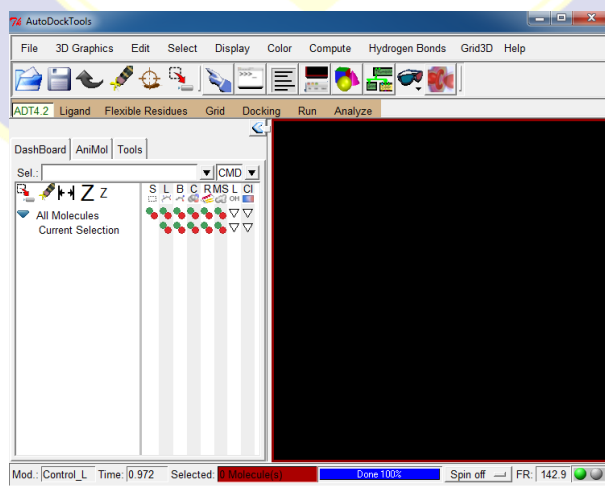
(LANJUTAN)



Gambar Situs Pubchem



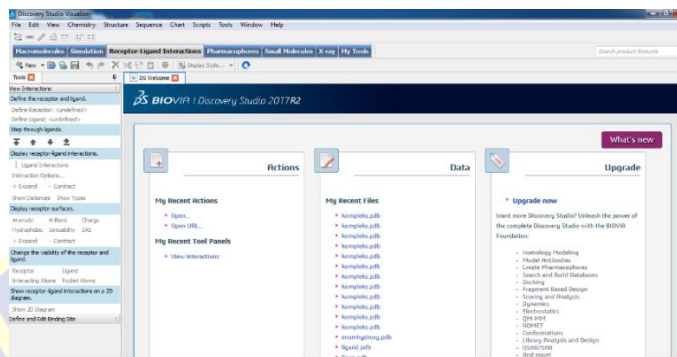
Gambar Situs Protein Data Bank



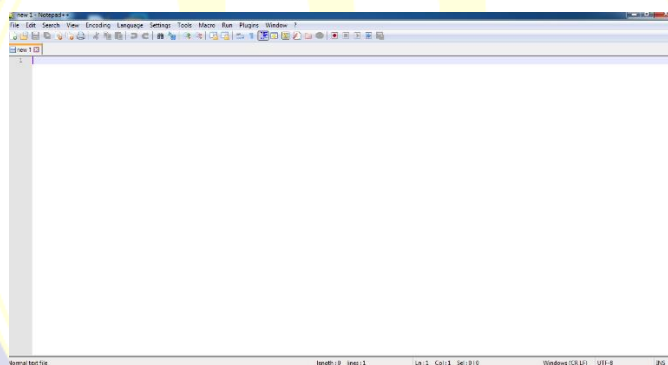
Gambar Aplikasi Autodock Tools

LAMPIRAN 3

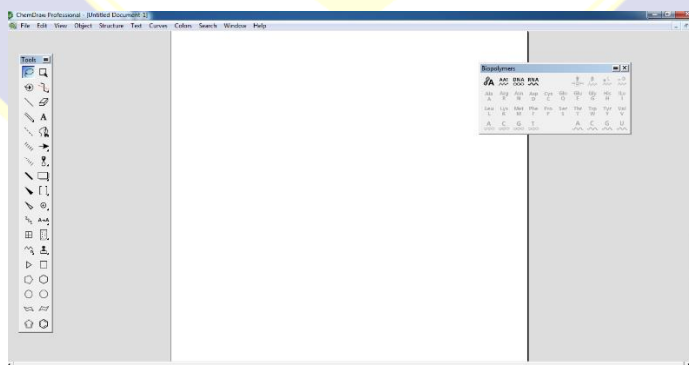
(LANJUTAN)



Gambar Aplikasi *Discovery Studio*



Gambar Aplikasi Notepad



Gambar *Chemdraw Profesional*

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

Nama : Patmah

Tempat/ Tanggal Lahir : Purwakarta, 26 Januari 1998

Jurusan : Farmasi

Semester : VIII (Genap)

Tahun Ajaran : 2016/2017

Jenis Kelamin : Perempuan

Agama : Islam

Status Perkawinan : Belum Menikah

Pekerjaan : Mahasiswa

Alamat : Kp. Pasanggrahan Rt 05 Rw 01 ds. Cilegong Kec
jatiluhur kab. Purwakarta

Riwayat Pendidikan : SDN 2 Cilegong
Mts YPIA Cikeris
SMK Farmasi Purwakarta

Riwayat Pekerjaan : -

Riwayat Organisasi : -

**STUDI MOLECULAR DOCKING SENYAWA TURUNAN
FLAVONOID PADA TANAMAN KUMIS KUCING
(*Orthosiphon stamineus* Benth.) SEBAGAI ANTIHIPERTENSI**

ABSTRAK

Hipertensi merupakan tekanan darah tinggi persisten dimana tekanan sistoliknyanya diatas 140 mmHg dan tekanan diastoliknyanya diatas 90 mmHg. Tanaman kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth.) merupakan salah satu obat herbal yang secara empiris memiliki efek antihipertensi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa flavonoid yang berpotensi sebagai aktivitas antihipertensi dengan menggunakan metode *in silico*. Pengujian ini meliputi pengujian *Lipinski's Rule of Five*, pengujian PreADMET, toksisitas dan *molecular docking* terhadap 11 senyawa flavonoid pada tanaman kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth.) terhadap reseptor 1UZF dengan ligan alami (captopril). Dari hasil pengujian *Lipinski's Rule of Five*, pengujian PreADMET, dan toksisitas pada semua senyawa flavonoid tanaman kumis kucing diketahui memenuhi persyaratan. Hasil *docking* menunjukkan semua senyawa ligan uji memiliki energi yang lebih rendah dari ligan alami. Senyawa sinensetin memiliki energi ikatan terendah atau memiliki ikatan yang paling stabil terhadap reseptor 1UZF dibandingkan dengan senyawa lainnya. Hasil visualisasi juga menunjukkan adanya kesamaan ikatan hidrogen antara senyawa sinensetin dengan ligan alami (captopril). Jadi senyawa sinensetin merupakan senyawa yang diprediksi paling berpotensi sebagai antihipertensi.

Kata kunci: antihipertensi, tanaman kumis kucing, flavonoid, *docking*

PENDAHULUAN

Seiring dengan perkembangan zaman dan gaya hidup yang tidak sehat memberikan pengaruh besar terhadap terjadinya hipertensi. Hipertensi tidak hanya saja menyerang usia lanjut tetapi juga menyerang usia muda. Berdasarkan data Riset Kesehatan Dasar tahun 2018 di Indonesia sendiri ada peningkatan hipertensi yang menyerang orang dewasa sebesar 8,3% dibandingkan dengan data Riset Kesehatan Dasar tahun 2013. (1) Hipertensi merupakan tekanan darah tinggi persisten dimana tekanan sistoliknya diatas 140 mmHg dan tekanan diastoliknya diatas 90 mmHg pada dua kali pengukuran dengan selang waktu lima menit dalam keadaan tubuh cukup istirahat dan tenang. (2)

Hipertensi dapat diobati dengan salah satu obat dari golongan *Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor* (ACEI). ACE-Inhibitor menghambat kerja ACE secara kompetitif sehingga menghambat pembentukan angiotensin II dalam tubuh. Angiotensin II merupakan vasokonstriksi yang memengaruhi penyempitan pembuluh darah dan pada akhirnya menyebabkan kenaikan darah. Beberapa obat ACE-I yang beredar di pasar adalah captopril, lisinopril, enalapril, kuinapril, fosinopril dan lain-lain. Obat antihipertensi yang bersifat lebih aman dapat diperoleh dari produk alam, salah satunya adalah yang diisolasi dari berbagai tanaman. (3)

Kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth.) termasuk ke dalam keluarga *Lamiaceae*. Daunnya mengandung senyawa-senyawa terpenoid dan senyawa fenol seperti flavonoid, isopiramin, benzokromen dan turunan asam organik. Di Indonesia sendiri tanaman kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth.) digunakan sebagai obat tekanan darah tinggi atau hipertensi. (4)

Khasiat tanaman obat sebagai antihipertensi dapat diprediksi menggunakan metode *molecular docking*. Metode ini berguna untuk mengetahui bagaimana interaksi kandungan kimia bahan aktif pada tumbuhan kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth.) dengan reseptor antihipertensi, yang kemudian dibandingkan dengan senyawa obat yang sudah diketahui efeknya sebagai antihipertensi.

Penelitian ini bertujuan untuk memprediksi aktivitas dari senyawa turunan flavonoid yang akan menjadi kandidat obat antihipertensi dari tumbuhan kumis

kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth.) dengan menggunakan metode *molecular docking*, analisis farmakokinetik, analisis fisikokimia dan toksisitas.

Adapun manfaat dari hasil penelitian yang akan dilakukan yaitu untuk memberikan informasi mengenai aktivitas senyawa terbaik dari tumbuhan kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth.) sebagai kandidat obat antihipertensi dengan menggunakan metode *molecular docking*, analisis farmakokinetika, analisis fisikokimia dan toksisitas.

METODE PENELITIAN

Alat

Perangkat keras (hardware) yang digunakan dalam penelitian ini adalah laptop lenovo dengan spesifikasi Intel Core i5-2520M CPU @2.50Ghz RAM 4GB yang ditunjang dengan akses internet untuk menjalankan koneksi dengan program *software*. *Software* yang digunakan adalah *Autodock Tools 4.2*[®], *Notepad++*[®], *Chem Draw Profesional 15.0*[®], *Discovery Studio Visualizer*[®], *Program Toxtree*[®], situs online *PubChem*, *Protein Data Bank (PDB)*, *Lipinski's Rule of Five*, *PreADMET*

Bahan

Pada penelitian ini digunakan struktur 3D antihipertensi (*Angiotensin Converting Enzyme*) yang diunduh pada *Protein Data Bank (PDB)*, struktur 3D ligan yang digunakan adalah senyawa turunan flavonoid tanaman kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth) dan reseptor antihipertensi. Senyawa flavonoid yang terkandung dalam tanaman kumis kucing (11 senyawa) yaitu : 5-hydroxy-6,7,3',4'-tetramethoxyflavone; 6-hydroxy-5,7,4'-trimethoxyflavone; 4-hidroxy-5,6,7-trimethoxyflavone; 4',5,6,7-tetramethoxyflavone; cirsimaritin, eupatorin, quercetin, salvigenin, luteolin, ladanein, sinensetin.⁽¹⁶⁾

Analisis Fisikokimia

Pengujian Fisikokimia

Pengujian fisikokimia untuk melihat karakteristik dari senyawa uji dilakukan secara *online* menggunakan program khusus melalui situs <http://www.scfbio-ittt.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp>. Struktur ligan yang sudah dalam bentuk.pdb kemudian disubmit dan diunduh untuk dianalisis yang dapat disimpan dalam format pdf. Parameter yang pada digunakan diantaranya lipofilitas (Log P)

kurang dari lima, jumlah donor ikatan hidrogen kurang dari lima, jumlah akseptor ikatan hidrogen kurang dari 10, dan bobot molekul kurang dari 500 g/mol. (5)

Pengujian Farmakokinetik dan Toksisitas

Pengujian farmakokinetika dan toksisitas dapat dilakukan secara *online* menggunakan suatu program khusus melalui situs <https://preadmet.bmc.dkr/>. Struktur ligan digambar secara manual dan diunduh untuk dianalisis hasilnya dalam bentuk pdf. Tujuan dari pengujian ini yaitu untuk memprediksi parameter farmakokinetika diantaranya absorpsi, distribusi dan pengujian toksisitas meliputi mutagen (*amst test*), *Benigni/Bossa rulebase*, dan *Kroes TTC*. (6).

Persiapan dan Preparasi Makromolekul

Reseptor yang berisi ligan alami diunduh dari Protein Data Bank (PDB) (<http://www.rcsb.com>). Makromolekul yang digunakan yaitu pada penelitian ini yaitu reseptor ACE-I dengan kode PDB ID 1UZF, 1UZE dan 1O86. Struktur yang akan digunakan memiliki resolusi $<2\text{\AA}$. File .pdb dipreparasikan dengan menggunakan *software Discovery Studio Visualizer*, dengan cara menghilangkan molekul air agar hasil dari preparasi ini menghasilkan dua file yaitu reseptor dan ligan. Molekul air yang tertambat pada makromolekul dihilangkan, agar tidak mengganggu proses *docking*. (7)

Validasi Metode (*re-docking*)

Melakukan validasi metode dengan proses *re-docking* atau menambatkan kembali ligan alami dengan reseptor target menggunakan aplikasi *Autodock Tools*[®]. Metode dikatakan valid jika nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) $<2\text{\AA}$. Untuk membatasi pencarian konformasi reseptor-ligan pada proses *docking* maka dilakukan pengaturan grid box (daerah ikatan) dengan titik pencarian pada posisi x,y, z dan output akhir disimpan dengan format dock.gpf. (8)

Optimasi Ligan

Menggambar ligan yang digunakan yaitu ligan uji berupa senyawa turunan flavonoid tanaman kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth.) menggunakan aplikasi ChemDraw Profesional 15.0[®] kemudian diprotonasi dan disimpan dalam format (.pdb). Tahap selanjutnya adalah pencarian konformasi terbaik (*conformational search*) untuk dijadikan bahan *docking*. Hal tersebut dapat dilihat

dari energi minimum setelah melewati proses *minimized energy*. Lalu disimpan dalam format (.pdb) untuk selanjutnya dipreparasi menggunakan Autodock Tools[®].

(9)

Simulasi Docking

Simulasi docking antara ligan uji dengan reseptor target dilakukan menggunakan software *Autodock Tools*[®] dengan grid box hasil dari validasi. Nilai terbaik ΔG (energi ikatan bebas) dengan nilai terkecil yang diperoleh dari hasil docking diamati dan dianalisis, semakin kecil nilai energi suatu ikatan maka stabil pula ikatan tersebut. Hasil dari simulasi docking adalah ΔG , K_i , dan jenis ikatan terhadap residu asam amino. (9)

Analisis dan Visualisasi Penambatan Molekul

Untuk melihat kalkulasi penambatan dapat dilihat pada *output.dlg* dalam format *notepad*⁺⁺[®]. Posisi dan orientasi ligan tersebut pada makromolekul, serta asam-amino yang terikat pada ligan divisualisasikan dengan menggunakan perangkat lunak *Discovery Studio Visualizer*[®] untuk melihat interaksi ligan dengan sisi aktif reseptor.

Hasil Dan Pembahasan

Analisis Parameter Sifat Fisikokimia Ligan Uji

Hal yang pertama dilakukan yaitu memprediksi beberapa aspek fisikokimia senyawa uji. Parameter fisikokimia yang bertujuan untuk melihat karakteristik dari senyawa uji apakah senyawa tersebut mampu menembus membran biologis dan memiliki permeabilitas yang baik untuk dijadikan obat oral. Parameter yang dilihat yaitu nilai $\log P < 5$, $BM < 500 \text{g/mol}$, donor ikatan hidrogen < 5 dan akseptor ikatan hidrogen < 10 .

Tabel 1 Hasil analisis Lipinski's Rule Of Five dari senyawa turunan flavonoid tanaman kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth.)

No	Nama senyawa	BM (g/mol)	Log P	Donor ikatan H	Akseptor ikatan H	Keterangan
1	Captopril (ligan alami)	217	0,627	1	4	Memenuhi

2	4 hidroxy-5,6,7- trimethoxyflavone	328	3,03	1	6	Memenuhi
3	4',5,6,7- tetramethoxyflavo ne	342	3,33	0	6	Memenuhi
4	5 hydroxy- 6,7,3',4'- tetramethoxyflavo ne	358	3,04	1	7	Memenuhi
5	6 hydroxy-5,7,4'- trimethoxyflavone	328	3,03	1	6	Memenuhi
6	Cirsimaritin	314	2,73	2	6	Memenuhi
7	Eupatorin	344	2,73	2	7	Memenuhi
8	Ladanein	314	2,73	2	6	Memenuhi
9	Luteolin	286	2,12	4	6	Memenuhi
10	Sinensetin	352	1,74	0	7	Memenuhi
11	Salvigenin	313	0,71	1	6	Memenuhi
12	Quercetin	297	-1,43	5	7	Memenuhi

Berdasarkan tabel di atas dan aturan *Lipinski's Rule of Five* ligan alami (captropil) dan semua senyawa flavonoid tumbuhan kumis kucing (*Orthosiphon staminus* Benth) memenuhi aturan *Lipinski* tersebut. Sehingga dapat diprediksi bahwa semua senyawa flavonoid tumbuhan kumis kucing (*Orthosiphon staminus* Benth.) memiliki absorpsi yang baik digunakan sebagai sediaan oral dan memiliki permeabilitas yang baik. Sehingga ligan alami (captropil) dan semua senyawa uji flavonoid tanaman kumis kucing (*Orthosiphon staminus* Benth) memiliki bioavaibiltas yang baik.

Analisis Sifat Farmakokinetik Dan Toksisitas

Paraemeter profil farmakokinetik meliputi absorpsi dan distribusi. Program Pre-ADMET dapat digunakan untuk menganalisa sifat farmakokinetik ligan uji.

Paramater yang dilihat yaitu permeabilitas sel *Human Colon Adenocarcinoma* (CaCo-2), HIA (Human Intestinal Absorption) dan PPB (*Protein Plasma Binding*).

Pengujian toksisitas yang dilakukan menggunakan program *Toxtree*[®]3.1.0. Pengujian ini dilakukan untuk memprediksi tingkat resiko toksisitas dari suatu senyawa di dalam tubuh manusia. Parameter pada pengujian toksisitas yang digunakan yaitu *mutagen (amest test)*, *Benigni/Bossa rulebase* dan *Kroes TCC decision tree*. (6)

Tabel 2. Uji Pre-ADME (Absorpsi dan Distribusi)

No	Senyawa/ligan	Absorpsi		Distribusi
		CaCo-2 cell (nm sec-1)	HIA (%)	Protein Plasma Binding (%)
1	Captopril (ligan pembanding)	21,031 ^b	79,474 ^a	60,470 ^b
2	4',5,6,7 – <i>tetramethoxyflavone</i>	53,76 ^b	98,44 ^a	88,11 ^b
3	Sinensetin	51,22 ^b	98,88 ^a	86,24 ^b
4	4 hidroxy-5,6,7- <i>trimethoxyflavone</i>	33,03 ^b	96,49 ^a	87,65 ^b
5	5 hydroxy-6,7,3',4'- <i>tetramethoxyflavone</i>	30,48 ^b	96,80 ^a	85,82 ^b
6	Cirsimaritin	8,36 ^b	93,37 ^a	88,05 ^b
7	Eupatorin	7,14 ^b	93,44 ^a	85,45 ^b
8	Ladanein	9,76 ^b	93,37 ^a	87,68 ^b
9	Luteolin	4,53 ^b	79,42 ^a	99,71 ^a
10	Quercetin	3,43 ^c	59,72 ^b	58,98 ^b
11	Salvigenin	33,06 ^b	96,48 ^a	87,41 ^b
12	6 hydroxy-5,7,4'- <i>trimethoxyflavone</i>	34,61 ^b	96,48 ^a	87,28 ^b

Tabel 3. Uji Toksisitas senyawa uji tanaman kumis kucing
(*Orthosiphon stamineus* Benth.)

No.	Senyawa	Mutagen (Amest Test)	Karsinogen		Kroes TTC
			<i>Genotoxic</i>	<i>Non genotoxic</i>	
1	<i>Captopil (ligan alami)</i>	Negatif	Negatif	Negatif	Tidak beresiko
2	Cirsimaritin	Negatif	Negatif	Negatif	Tidak beresiko
3	Eupatorin	Negatif	Negatif	Negatif	Tidak beresiko
4	Ladanein	Negatif	Negatif	Negatif	Tidak beresiko
5	Luteolin	Negatif	Negatif	Negatif	Tidak beresiko
6	Quersetin	Negatif	Negatif	Negatif	Tidak beresiko
7	Salvigenin	Negatif	Negatif	Negatif	Tidak beresiko
8	Sinensetin	Negatif	Negatif	Negatif	Tidak beresiko
9	<i>4'-hydroxy-5,6,7- trimethoxyflavone</i>	Negatif	Negatif	Negatif	Tidak beresiko
10	<i>4', 5,6,7- tetramethoxyflavone</i>	Negatif	Negatif	Negatif	Tidak beresiko
11	<i>5-hydroxy-6,7,3,4'- tetramethoxyflavone</i>	Negatif	Negatif	Negatif	Tidak beresiko
12	<i>6-hydroxy-5,7,4'- trimethoxyflavone</i>	Negatif	Negatif	Negatif	Tidak beresiko

Berdasarkan pengujian Pre-*ADMET* ligan alami (captropil) dan semua senyawa uji memiliki nilai profil absorpsi yang baik, kecuali quercetin memiliki profil absorpsi yang kurang baik. Pengujian profil distribusi senyawa luteolin memiliki kemampuan distribusi yang baik karena terikat kuat dengan protein plasma binding. Sedangkan, senyawa lainnya tidak terdistribusi baik di dalam tubuh. Berdasarkan hasil tabel 3 pengujian toksisitas ligan alami (captropil) dan semua ligan uji tidak bersifat mutagenik dan karsinogenik juga aman jika digunakan oleh manusia.



Molecular docking

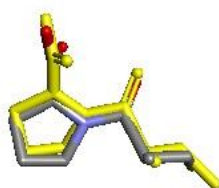
Validasi Metode

Hal yang pertama dilakukan yaitu validasi metode. Tujuan dari validasi metode ini yaitu untuk melihat metode yang digunakan valid sebagai pembanding. Dilihat dari nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*) $< 2 \text{ \AA}$. Validasi dilakukan terhadap 3 file PDB yaitu 1UZF yang kompleks dengan captropil, 1UZE yang kompleks dengan enalapril dan 1O86 yang kompleks dengan lisinopril. Dari hasil *redocking* untuk makromolekul 1UZF didapatkan nilai RMSD $0,616 \text{ \AA}$, sehingga menunjukkan bahwa makromolekul 1UZF dikatakan valid dan dapat digunakan pada proses *docking* juga bisa digunakan untuk *medocking* senyawa uji. Sedangkan makromolekul 1UZE dan 1O86 tidak dapat digunakan.

Tabel 4. Data RMSD (Root Mean Square Deviation)

No	PDB	RMSD
1	1UZF (Captropil)	$0,616 \text{ \AA}$
2	1UZE (Enalapril)	$2,705 \text{ \AA}^*$
3	1O86 (Lisinopril)	$2,071 \text{ \AA}^*$

Ket: *= Tidak valid (RMSD $> 2 \text{ \AA}$)



Gambar 1. Visualisasi tumpang tindih ligan alami Captropil (warna abu gelap) dengan ligan hasil *redocking* (warna kuning)

Tabel 5. Hasil validasi metode dengan *redocking* captropil

Kode PDB	Grid Box	Energi bebas (kkal/mol)	Konstanta Inhibisi (μM)
----------	----------	----------------------------	---

1UZF	X: 40,835	-6,71	12,05
	Y: 34,382		
	Z: 44,607		

Preparasi Ligan Uji

Ligan uji yang sudah digambar di aplikasi *ChemDraw Profesional 15.0*[®] kemudian dilakukan proses *minimized energy* dengan menggunakan metode MM2 (*Mekanika Molecular*) yang kemudian di simpan dalam format .pdb.

Docking Senyawa Uji

Senyawa uji yang sudah dilakukan optimasi kemudian dilakukan *simulasi docking* menggunakan aplikasi *Autodock Tools 4.2* dengan metode yang sama digunakan saat validasi metode *docking*. Simulasi *docking* pada senyawa uji dilakukan untuk mengetahui nilai energi bebas dan nilai konstanta inhibisi juga melihat interaksi senyawa uji pada sisi aktif reseptornya. Adapun energi ikatan yang diambil adalah yang paling negatif karena memiliki interaksi yang kuat dan paling stabil. Data yang diperoleh pada penelitian ini menunjukkan bahwa dari 11 senyawa uji didapat energi bebas dan nilai konstanta inhibisi sebagai berikut:

Tabel 6. Data hasil docking ligan uji

No	Ligan	ΔG (kkal/mol)	Ki (μM)
1	Captopril (ligan alami)	-6,71	12,05
2	Sinensetin	-8,59**	0,50167
3	Eupatorin	-8,55*	0,53832
4	Luteolin	-8,50*	0,59239
5	5-hydroxy-6,7,3',4'-tetramethoxyflavone	-8,31*	0,80464

6	Salvigenin	-7,94*	1,52
7	4',5,6,7 tetramethoxyflavone	-7,62*	2,60
8	6-hydroxy-5,7,4'-trimethoxyflavone	-7,44*	3,50
9	Cirsimaritin	-7,38*	3,88
10	4 hidroxy-5,6,7-trimethoxyflavone	-7,35*	4,08
11	Ladanein	-7,23*	4,99
12	Quercetin	-7,77*	2,01

Ket: * = Energi ikatan ligan uji < ligan alami

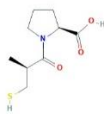
** = Energi ikatan terendah

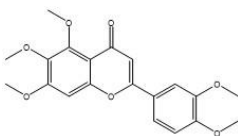
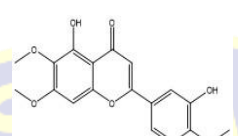
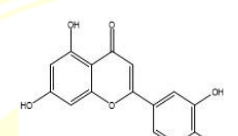
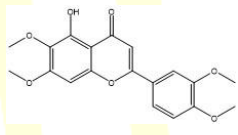
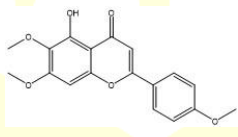
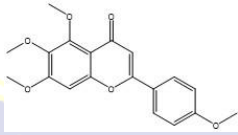
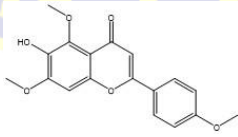
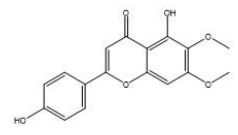
Berdasarkan data hasil docking pada tabel 4 diatas, dilakukan perbandingan energi bebas dan konstanta inhibisi dari ligan alami. Semua senyawa uji memiliki energi ikatan lebih rendah dibanding dengan alaminya. Senyawa sinensetin (***) memiliki energi ikatan yang lebih rendah dibanding dengan senyawa uji lainnya.

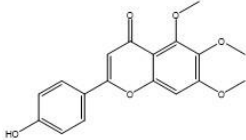
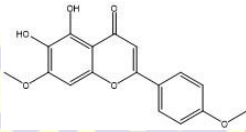
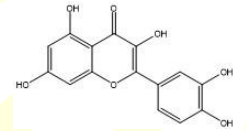
Visualisasi Hasil Docking Terhadap Reseptor 1UZF

Selain dilihat parameter dari energi ikatan dan konstanta inhibisi juga diamati residu asam amino yang terbentuk dengan dilakukan visualisasi menggunakan aplikasi Discovery of Visualizer.

Tabel 7. Data visualisasi hasil docking terhadap reseptor 1UZF

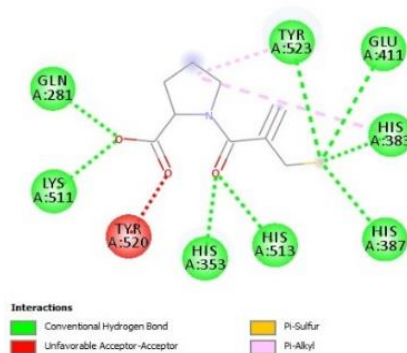
No	Senyawa	Struktur	Ikatan	Ikatan
1	Captopril		Hidrogen His 353* His 383** His 387*** His 513**** Gln 281***** Tyr 523 Glu 411 Lys 511	Hidrofobik His 383***** Tyr 523*****

2	Sinensetin		His 353* His 387*** His 513**** His 383 Glu 411 Ser 355 Ala 354	Tyr 523***** Phe 457 His 387
3	Eupatorin		His 353* His 383** His 387*** His 513**** Tyr 520 Ser 355 Glu 384	His 383***** Tyr 523***** Phe 457
4	Luteolin		His 353** His 383** His 387*** His 513****	Tyr 523*****
5	5-hydroxy-6,7,3',4'- tetramethoxyflavone		His 353* His 383** His 387*** His 384 His 513**** Tyr 523	Tyr 523*****
6	Salvigenin		His 383** Gln 281***** Tyr 520 Ala 356 Asp 415	His 383***** Tyr 523*****
7	4',5,6,7 tetramethoxyflavone		His 353* His 383** His 513**** Ala 356 Asp 415 Ala 354	Tyr 523***** His 383***** His 387
8	6-hydroxy-5,7,4'- trimethoxyflavone		His 353* His 383** His 513**** Ala 356 Asp 415	His 383***** His 387
9	Cirsimaritin		His 353* His 383** His 387*** His 513**** Gln 281***** Glu 384	Tyr 523*****

10	<i>4 hidroxy-5,6,7-trimethoxyflavone</i>		Ala 356 Ser 355 His 353* His 383** His 387*** His 513****	Tyr 523***** His 387
11	Ladanein		His 383** Tyr 520 Gln 281***** Ala 356 Asp 415	His 383***** Tyr 523*****
12	Quercetin		His 353* His 383** Asp 415 Glu 411 Ala 356 Tyr 520	His 383***** Phe 457 His 387

Keterangan: * = Ikatan hidrogen dengan asam amino His 353
 ** = Ikatan hidrogen dengan asam amino His 383
 *** = Ikatan hidrogen dengan asam amino His 387
 **** = Ikatan hidrogen dengan asam amino His 513
 ***** = Ikatan hidrogen dengan asam amino Gln 281
 **** = Ikatan hidrofobik dengan asam amino His 383
 ***** = Ikatan hidrofobik dengan asam amino His 523

Berdasarkan tabel 7. data visualisasi hasil docking terhadap ligan alami captropil (1UZF) memiliki 8 ikatan hidrogen dengan asam amino Tyr 523, Glu 411, His 383, His 387, His 513, His 353, Lys 511, Gln 281 dan memiliki 2 ikatan hidrofobik dengan asam amino His 383, Tyr 523. Kemudian dibandingkan antara visualisasi ligan alami (captropil) dan sinensetin yang memiliki energi ikatan paling rendah terdapat 3 ikatan hidrogen dengan residu asam amino His 387, His 513, His 353 yang sama dan 1 ikatan hidrofobik dengan residu asam amino Tyr 523.



Gambar 2. Visualisasi Interaksi Captropil terhadap reseptor 1UZF

Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan pada 11 senyawa turunan flavonoid pada tanaman kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth.) diketahui bahwa pada analisis fisikokimia semua senyawa flavonoid pada tanaman kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth.) memenuhi aturan *Lipinski Rule of Five* sehingga memiliki bioavailabilitas yang baik. Untuk analisis farmakokinetik dengan pengujian Pre-ADME semua senyawa memiliki profil absorpsi yang baik kecuali senyawa quercetin. Untuk profil distribusi senyawa luteolin memiliki distribusi yang baik sedangkan senyawa lainnya memiliki distribusi yang kurang baik. Pengujian toksisitas semua senyawa tidak bersifat mutagenik dan karsinogenik dan memiliki tingkat resiko toksisitas aman bagi manusia. Dari hasil *docking* semua senyawa memiliki energi yang lebih baik dari ligan alami (captropil). Senyawa sinensetin memiliki energi ikatan yang paling rendah dibandingkan dengan senyawa-senyawa yang lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa sinensetin memiliki potensi sebagai kandidat obat antihipertensi.

Daftar Pustaka

1. *Riset Kesehatan Dasar*. **Kemendes, Republik Indonesia**. 2018.
2. **R, Harvey and C, Champe P.** *Farmakologi Ulasan Bergambar*. Jakarta : EGC, 2009.
3. *MIKROENKAPSULASI EKSTRAK FORMULA PEGAGAN-KUMIS KUCING-SAMBILOTO SEBAGAI INHIBITOR Angiotensi I Converting Enzyme SECARA In*

Vitro. **Ismarani, Pradono, Dyah Iswantini and Darusman, Latifah K.** 1, s.l. : Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah, 2011, Vol. III.

4. **Sjamsul, Achmad Arifin, Euic, Hakim Holisotan and Lukman, Makmus.** *Ilmu Kimia dan Kegunaan Tumbuh-Tumbuhan Obat Indonesia*. Bandung : ITB, 2009.

5. *Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development*. **Lipinski, Christopher A, et al.** 3-26, USA : Advanced Drug Delivery Reviews , 2001, Vol. XLVI.

6. *The Benigni/Bossa rulebase for mutagenicity and carcinogenicity a module of Toxtree*. **Benigni, Romualdo, et al.** Italy : European Commission, 2008.

7. *Penambatan Senyawa Komponen Tanaman Kumis Kucing (Orthosiphon stamineus Benth) sebagai Diuretik Menggunakan Metode Docking*. **Hasbi, Fatwa, Amin, Saeful and Nofianti, Tita.** Tasikmalaya : STIKES Bakti Husada.

8. *Study Molecular Docking, Molecular Dynamic Dan Prediksi Toksisitas Senyawa Turunan Alkaloid Naftiridin Inhibitor Protein Kasein Kinase 2- a Pada Kanker Leukimia*. **Muttaqin, Fauzan Zein, Ismail, Halim and Hubbi, Muhammad Nasrullah.** s.l. : Pharmaoscript, 2019.

9. *MOLECULAR DOCKING STUDY OF XANTHONE DERIVATE COUMPOUNDS OF MANGOSTEEN RIND (Garcinia mangostana L.) TO ESTROGEN RECEPTOR ALFA AND ESTROGEN RECEPTOR BETA AS ANTI-BREASTCANCER*. **Prasetiawati, Riska, et al.** s.l. : Jurnal Farmakobahari, 2018.

10. *Antihypertensive Testing of Combination of Apium graveolans L., Orthosiphon stamineus Benth., and Morinda citrifolia L extract on Normotensive and Hypertensive Sprague Dawley Rats*. **Rumiyati, et al.** Yogyakarta : Universitas Gadjah Mada, 2016, Vol. XXI. ISSN : 1410-5918.

11. *PENETAPAN KADAR FLAVONOID TOTAL EKSTRAK DAUN CENGKEH (Syzigium aromaticum (L.) Merr & Perry)*. **Wahyulianingsih, Handayani, Selpida and Malik, Abd.** 2, s.l. : Jurnal Fitofarmaka Indonesia, 2016, Vol. III.

12. **Hardman, Joel G, Limbird, Lee E. and Gilman, Alfred Goodman.** *Dasar Farmakolog Terapi* . s.l. : EGC, 2002.

13. **Shargel, Leon.** *Bofarmasetika dan Farmakokinetika Terapan*. Surabaya : Pusat Penerbitan dan Percetakan Universitas Airlangga, 2012.

14. **E.Y, Sukandar, et al.** *ISO Farmakoterapi*. Jakarta : PT ISFI Penerbitan, 2008.
15. *Molecular Docking Algoritma*. **Raquel, Dias and Jr., Walker Filgueria De Azevedo.** s.l. : Current Drug Targets, 2009.
16. **Siswandono and B, Soekardjo.** *Prinsip-Prinsip Rancangan Obat*. Surabaya : Airlangga University Press, 1998.
17. *Study Penambatan Molecular Senyawa Scopoletin Dari Buah Mengkudu (Morinda Carifolia L.) Pada Enzim ACE Sebagai Antihipertensi*. **Praja, Randi Adi, Pratiwi, Dina and Nuraini.** 1, s.l. : Jurnal Farmagazine, 2018, Vol. V.
18. **Sri Fatmawati, S.Si., Ph.D., Devi Anggraeni P, S.Si., M.Si., and Rose Malna Annur, S.Si., M.Si.,** *Bioaktivitas dan Konstitun Kimia Tanaman Obat Indonesia* . Yogyakarta : CV Budi Utama, 2019.
19. *From Ethnopharmacology To Clinical Study Of Orthosiphon Stamineus Benth.* **Adnyana, I Ketut, Setiawati, Finna and Insanu, Muhammad.** 3, s.l. : International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Selences, 2013, Vol. V. ISSN.
20. *Karakteristik Morfologi Tanaman Kencur (Kaemferia galanga L.) dan Aktivitas Farmakologi*. **Soleh, Sandra Megantara.** 2019, Farmaka , pp. 256-262.
21. *Simulasi Dinamika Molekular Reseptor Estrogen Alfa dengan Andrografolid sebagai Antikanker Payudara*. **Dermawan, Doni, Sumirtanurdin, Riyadi and Dewantisari, Deti.** Bandung : Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology, 2019.
22. *Isolation antyhipertensive activity and structure activity relationship of flavonoid from three medical plants*. **Baher, Ahmed, Al-Howiriny, Taweq and Mossa, Jaber S.** 400-404, Saudi Arabia : Indian Jurna of Chemistry, 2004, Vol. 44b.
23. *Studi Penambatan Molekul Senyawa-Senyawa Amidasu etil Para Metoksisinamat Pada Poleferator-Activated Reseptor Gamma (PPARy)*. **Apriani , F.** Jakarta : s.n., 2015.
24. *Review Jurnal : Klasifikasi dan Aktivitas Farmakologi dari Senyawa Katif Flavonoid*. **Alfaridz, Faizal and Amalia, Riezki.** 3, Sumedang : Farmaka , 2016, Vol. XVI.

25. *Mekanisme Angiotensin Converting Enzyme Flavonoid Hipertensi*. **Widiasari, Santi**. 2, Riau, Indonesia : Collaborative Medical Journal, 2018, Vol. I.
26. *Isolation, Antihypertensive Activity and Structure Activity Relationship of Flavonoid from Thre*. **Bahar, Ahmed, et al.** 478-494, Saudi Arabia : Indian Journal of Chemistry, 2004, Vol. XL.
27. *Synthesis, Characterization, Anticancer And In silico ADME Properties Of*. **Galuh, Widiyarti, et al.** Banten, Indonesia : Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology, 2019.
28. *BDDCS the Rule of 5 and drugability*. **Benet, Leslie Z, et al.** USA : Advanced Drug Delivery Reviews, 2016.
29. **Fatmawati, Sri, Anggraeni, Devi and Annur, Rose Malna.** *Bioaktivitas dan Konstituen Kimia Tanaman Obat Indonesia*. Yogyakarta : CV. Budi Utama, 2019.
30. *Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strateiges*. **Ferreira, Leonardo G, Santos, Ricardo and Oliva, Glaucius.** Brazil : Molecules, 2015.

