

Studi *In Silico* Senyawa Aktif Daun Singawalang (*Petiveria alliacea*) Sebagai Penurun Kadar Glukosa Darah Untuk Pengobatan Penyakit Diabetes Melitus Tipe-2

Salsa Sagitasa*, Karyn Elizabeth, Luthfi Ihsan Sulaeman, Annisa Rafasafly, Desra Widdy Syafr, Abednego Kristande, M. Muchtaridi

Departemen Analisis Farmasi dan Kimia Medisinal, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Sumedang

*Penulis korespondensi: salsa19009@mail.unpad.ac.id

DOI: <https://doi.org/10.24198/cna.v9.n2.34083>

Abstrak: Diabetes melitus (DM) adalah kondisi hiperglikemik kronis yang merupakan tanda adanya gangguan metabolik. Pengendalian homeostasis glukosa serta metabolisme zat makanan sangat penting pada penderita DM. Salah satu yang berperan dalam pengendalian tersebut adalah AMPK- α 2, sehingga AMPK- α 2 dapat dijadikan sasaran pengobatan DM tipe 2. Secara empiris, singawalang (*Petiveria alliacea*) dimanfaatkan untuk pengobatan diabetes. Tanaman yang banyak ditemukan di Indonesia tersebut, mengandung berbagai senyawa aktif, diantaranya benzaldehida, benzil 2-hidroksietil trisulfida, tanin, kumarin, dan isoarborinol. Pada penelitian ini, dilakukan analisis interaksi dan afinitas senyawa daun singawalang terhadap reseptor AMPK- α 2 serta dilakukan prediksi terkait adsorpsi, distribusi, metabolisme, dan toksisitas (Pre-ADMET) sehingga memperoleh kandidat obat baru untuk pengobatan diabetes melitus tipe-2 dengan efek samping minimum dan profil farmakokinetik yang baik. Hasil simulasi penambatan molekuler senyawa aktif singawalang terhadap reseptor AMPK- α 2 menunjukkan 3 ligan uji terbaik dengan nilai energi bebas ikatan (ΔG) dan nilai konstanta inhibisi (K_i) yang lebih rendah dibandingkan pembanding, Metformin, yang memiliki nilai energi bebas ikatan (ΔG) -5.16 kcal/mol. Ketiga senyawa tersebut adalah isoarborionl asetat dengan nilai energi ikatan -7,57 kkal, isoarborinol sebesar -7,45 kkal, dan benzyl 2-hydroxymethyl trisulphide sebesar -5,95 kkal. Sedangkan prediksi ADMET dengan operasi *ADMET Predictor* menunjukkan bahwa ligan uji benzyl 2-hydroxyethyl trisulphide memiliki potensi bersifat mutagenik tetapi tidak karsinogenik. Oleh karena itu, perlu modifikasi struktur untuk dapat memberikan efek toksisitas yang lebih rendah. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, diketahui bahwa benzyl 2-hydroxyethyl trisulphide merupakan kandidat senyawa yang paling berpotensi dengan afinitas tertinggi dan resiko toksisitas yang rendah.

Kata kunci: AMPK- α 2, Diabetes Tipe 2, Penambatan Molekuler, PreADMET, Singawalang

Abstract: Diabetes mellitus is a chronic hyperglycemic condition. Control of glucose homeostasis and metabolism is very important. AMPK- α 2 plays a role in this control and can be potentially used as a treatment target for type 2 diabetes. Empirically, singawalang (*Petiveria alliacea*) is used for the treatment of diabetes. It commonly found in Indonesia, contain various active compounds, including benzaldehyde, benzyl 2-hydroxyethyl trisulfide, and tannins. Analysis of the interaction and affinity of the compounds and predictions related to adsorption, distribution, metabolism, and toxicity (Pre-ADMET) were carried out to obtain new drug candidates with minimum side effects and good pharmacokinetic profile. The results showed 3 best ligands with a lower bond free energy value (ΔG) and inhibition constant (K_i) value than metformin, which had free energy value (ΔG) -5.16 kcal/mol. They are isoarborionl acetate -7.57 kcal, isoarborinol -7.45 kcal, and benzyl 2-hydroxymethyl trisulphide -5.95 kcal. The prediction of ADMET showed that benzyl 2-hydroxyethyl trisulphide had the potential to be mutagenic but not carcinogenic. Therefore, it is necessary to modify the structure to be able to provide a lower toxicity effect. Based on these results, benzyl 2-hydroxyethyl trisulphide is the most potent candidate compound with the highest affinity and low risk of toxicity.

Keywords: AMPK- α 2, Diabetes Type 2, Molecular Docking, PreADMET, Singawalang

PENDAHULUAN

Kadar gula darah tinggi merupakan salah satu tanda dari penyakit diabetes melitus (DM). Penyakit

tersebut terjadi akibat adanya gangguan metabolisme kronis dengan etiologi yang beragam. Diabetes melitus digolongkan menjadi tipe 1 dan 2

berdasarkan penyebabnya, tipe 2 diabetes melitus merupakan akibat dari turunnya sekresi insulin. Selain menjadi penyebab kematian, DM juga menjadi penyebab kebutaan, gagal ginjal, dan penyakit jantung. Pada tahun 2019, sekitar 463 juta orang usia 20-79 tahun hidup dengan diabetes. *International Diabetes Federation* (IDF) telah memperkirakan bahwa akan ada peningkatan jumlah penderita diabetes menjadi 693 juta pada tahun 2045 jika tidak ada metode pencegahan yang efektif. Indonesia sendiri, menduduki posisi ke-7 dari 10 negara dengan jumlah penderita diabetes tertinggi tahun 2019 dengan jumlah 10,7 juta orang. Angka tersebut menjadikan Indonesia sebagai negara dengan jumlah penderita diabetes tertinggi di Asia Tenggara (Kemenkes RI, 2020).

Penatalaksanaan diabetes melitus adalah untuk mencapai tujuan jangka pendek, jangka panjang, dan tujuan akhir. Tujuan jangka pendeknya adalah kualitas hidup meningkat dengan menghilangkan keluhan dan mengurangi risiko komplikasi akut. Selanjutnya, tujuan jangka panjangnya, yaitu mencegah dan menghambat progresivitas penyulit mikroangiopati dan makroangiopati. Sedangkan, tujuan akhir pengelolaan adalah untuk menurunkan morbiditas dan mortalitas akibat diabetes melitus (Kemenkes RI 2020). Karena salah satu penyebab diabetes melitus adalah masalah metabolisme, maka pengobatan yang dapat dilakukan salah satunya adalah dengan mengendalikan metabolisme glukosa. Pengendalian tersebut, dilakukan melalui regulasi enzim 5' *adenosine monophosphate-activated protein kinase* (AMPK). Enzim AMPK memiliki beberapa subunit, yaitu $\alpha 1$, $\alpha 2$, β , dan γ . Subunit $\alpha 2$ berfungsi untuk mengatur transkripsi dan ekspresi gen yang letaknya berada di inti sel (Mustika dkk. 2017).

Tanaman Singawalang (*Petiveria alliacea*) banyak tumbuh di Indonesia dengan pemanfaatan yang masih belum maksimal. Di daerah tempat tanaman ini berasal yaitu hutan Amazon, singawalang digunakan sebagai ramuan obat tradisional dengan nama Anamu atau Apacin (Tropical Plant Database 2013). Ekstrak daun singawalang memiliki banyak zat aktif yang memberikan efek farmakologis. Zat aktif tersebut, diantaranya benzaldehyde, benzyl 2-hydroxyethyl trisulphide, coumarin, isoarborinol, isoarborinol acetate, isoarborinol cinnamate, isothiocyanates, polifenol, senfol, tanin, dan trithiolaniacine (Mustika dkk. 2017).

Penelitian ini bertujuan untuk memprediksi metabolit sekunder atau zat aktif pada ekstrak daun Singawalang yang dapat berinteraksi dengan reseptor AMPK- $\alpha 2$. Metode yang dilakukan yaitu dengan studi *in silico* berupa penambatan molekuler kemudian dilakukan prediksi ADME dan toksisitas dari senyawa yang didapatkan.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan secara *in silico* untuk menilai beberapa parameter dalam simulasi penambatan molekuler, seperti energi bebas ikatan, konstanta inhibisi, dan jenis interaksi. Selain itu, dilakukan juga prediksi profil ADMET untuk menghindari masalah farmakokinetik obat. Studi ini ditujukan untuk menilai senyawa yang paling berpotensi sebagai obat antidiabetes dari tanaman singawalang, yaitu benzaldehyde, benzyl 2-hydroxyethyl trisulphide, myricitrin, isoarborinol acetate, engeletin, astilbin, barbinervic acid, allantoin, oleic acid, coumarin, friedelinol, dan isoarborinol. Sebagai pembanding digunakan obat antidiabetes yaitu metformin. Dalam uji komputasi digunakan software *Biovia Discovery Studio 2020* dan *AutoDockTools-1.5.6*.

Alat

Program *Chem3D Pro 12.0*, *ChemDraw Ultra 12.0*, *Biovia Discovery Studio 2020*, dan *AutoDock Tools-1.5.6*.

Bahan

Senyawa aktif dari daun singawalang digunakan sebagai ligan uji, diantaranya benzaldehyde, benzyl 2-hydroxyethyl trisulphide, myricitrin, isoarborinol acetate, engeletin, astilbin, barbinervic acid, allantoin, oleic acid, coumarin, friedelinol, dan isoarborinol. Digunakan pula reseptor AMPK- $\alpha 2$ beserta *native ligand*-nya, yaitu senyawa pirimidin. Sedangkan, ligan pembanding yang digunakan adalah metformin.

Persiapan Reseptor

Reseptor AMPK- $\alpha 2$ diperoleh dari Protein Data Bank dengan kode 3AQV dalam bentuk 3D. Preparasi dilakukan dengan penambahan muatan *Kollman charges* serta atom hidrogen menggunakan program *AutodockTools1.5.6* hingga didapatkan file dengan format *pdbqt*.

Validasi Metode

Redocking senyawa *native ligand*, yaitu 6-[4-(2-piperidin-1-ylethoxy)phenyl]-3-pyridin-4-ylpyrazolo [1,5-a]pyrimidine pada reseptor AMPK- $\alpha 2$ merupakan metode yang digunakan untuk melakukan validasi. Nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) menjadi parameter yang perlu diperhatikan dengan nilai sebesar $\leq 2 \text{ \AA}$ artinya penelitian menggunakan reseptor AMPK- $\alpha 2$ dapat dilakukan dan dinyatakan valid (Muttaqin dkk. 2019).

Persiapan Senyawa Uji

Senyawa uji berbentuk 3D didapatkan dengan cara mengunduh struktur melalui Pubchem dalam bentuk *sdf*. Kemudian format senyawa uji diubah menjadi bentuk *pdb* menggunakan aplikasi *Biovia Discovery Studio*. Struktur senyawa uji tersebut kemudian dipreparasi dengan bantuan

AutodockTools-1.5.6 sehingga diperoleh file dalam bentuk pdbqt.

Proses Simulasi Penambatan Molekuler

Simulasi dilakukan dengan program *AutoDock Tools-1.5.6*. *Grid box* diatur dimensinya sesuai ukuran ligan (*fit to ligand*) dengan nilai dimensi x : 10, y : 16, dan z : 10 dengan koordinat berturut-turut, yaitu -6,302; 44,128; dan 7,231 serta jarak 1.000 Å. Digunakan pula *Genetic algorithm* dengan jumlah GA runs sebanyak 50 kali.

Analisa Data

Hasil penambatan molekuler dianalisis menggunakan *Autodock 4.2.6*. Interaksi dengan residu asam amino, konstanta inhibisi, dan energi bebas ikatan merupakan parameter-parameter yang diperhatikan. Penentuan konformasi ligan hasil penambatan melokuler terbaik dilihat dan dipertimbangkan berdasarkan parameter-parameter tersebut.

Prediksi Farmakokinetik dan Toksisitas (Pre-ADMET)

Prediksi Farmakokinetik dan Toksisitas didapatkan melalui situs <https://preadmet.bmdrc.kr/>. Mula-mula struktur senyawa uji digambar kemudian di-submit sehingga menghasilkan beberapa parameter yang menunjukkan prediksi adsorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi serta prediksi toksisitas. Parameter adsorpsi didapatkan berdasarkan nilai HIA dan Caco2, parameter distribusi berdasarkan nilai PPB (*Plasma Protein Binding*) dan BBB (*Blood-Brain Barrier*), parameter metabolisme berdasarkan aktivitas CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4, serta toksisitas berdasarkan potensi mutagenik dan karsinogenik dari masing-masing senyawa uji.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Reseptor dan Ligan

Protein uji yang digunakan adalah protein AMPK- $\alpha 2$ (PDB ID : 3AQV). Kompleks protein ini terdiri dari reseptor dengan *native ligand*, 6-[4-(2-piperidin-1-ylethoxy)phenyl]-3-pyridin-4-ylpyrazolo[1,5-a]pyrimidine. Protein reseptor dipreparasi dengan penambahan muatan *Kollman charges* dan atom hidrogen. Sedangkan, Ligan uji yang berjumlah 12 senyawa yang berasal dari daun singawalang yang diperoleh dari beberapa jurnal penelitian. Keseluruhan ligan uji tersebut dibuat pemodelan 2 dan 3 dimensi untuk mengetahui simulasi penambatan molekuler dan parameter prediksi ADMET.

Validasi Metode

Validasi metode dilakukan untuk menilai parameter-parameter tertentu yang digunakan pada suatu penelitian. Parameter tersebut perlu memenuhi persyaratannya agar suatu metode dapat diaplikasikan (Harmita, 2012). Validasi metode pada penelitian ini dilakukan dengan cara simulasi penambatan pada

native ligand yang terdapat pada reseptor yaitu 6-[4-(2-piperidin-1-ylethoxy)phenyl]-3-pyridin-4-ylpyrazolo[1,5-a]pyrimidine ($C_{24}H_{25}N_5O_2$) pada reseptor AMPK- $\alpha 2$.

Validasi dilakukan dengan menggunakan aplikasi *Biovia Discovery Studio 2020* dan *AutoDock Tools-1.5.6* serta parameter RMSD. RMSD menyatakan besarnya perubahan interaksi protein-ligan pada struktur kristal sebelum dan sesudah dilakukan penambatan. Dari hasil simulasi penambatan *native ligand* (Tabel 1) didapat hasil nilai RMSD 1.450 Å dimana hasil ini menunjukkan bahwa reseptor yang dipilih yaitu AMPK- $\alpha 2$ (3AQV) dapat digunakan untuk melakukan uji *in silico* simulasi penambatan molekuler.

Tabel 1. Hasil Validasi Metode

Kode PDB	Grid Box (x,y,z)	Validasi		Energi Ikatan (kcal/mol)
		RMSD Cluster (Å)	RMSD Reference (Å)	
	-6.302			
3AQV	44.128	1.450	≤ 2	-7.79
	7.231			

Simulasi Penambatan Molekuler Senyawa Uji

Simulasi ini bertujuan untuk memprediksi senyawa uji yang memiliki konformasi interaksi terbaik terhadap reseptor dengan mengetahui interaksi antara senyawa uji dengan bagian aktif reseptor serta (Muttaqin dkk. 2019). Hasil simulasi ditunjukkan pada Tabel 2. Terdapat beberapa parameter yang didapatkan dari simulasi penambatan molekuler senyawa uji, diantaranya adalah nilai energi bebas ikatan (ΔG), Konstanta Inhibisi (Ki), serta jenis interaksi yang terjadi pada ligan dan reseptor. Interaksi tersebut diprediksi melalui, ikatan *van der Waals*, ikatan hidrogen, serta ikatan lainnya. Parameter yang dihasilkan dari simulasi penambatan molekuler senyawa uji kemudian dibandingkan dengan pembanding. Pembanding yang digunakan adalah senyawa pirimidin sebagai *native ligand* dan metformin sebagai obat diabetes yang tersedia di pasaran saat ini.

Hasil penambatan molekuler menunjukkan bahwa nilai energi bebas ikatan terkecil dari interaksi antara senyawa uji yang berasal dari singawalang dengan reseptor, yaitu isoarborinol acetate, isoarborinol, benzyl 2-hydroxyethyl trisulphide, coumarin, dan astilbin masing-masing nilai energinya sebesar -7,57; -7,45; -5,95; -4,56; dan -4,43. Sedangkan nilai energi bebas Gibbs dari senyawa pembanding *native ligand* adalah -7,79 dan metformin sebesar -5,16. Nilai energi Gibbs menunjukkan kekuatan ikatan dan kestabilan konformasi antara ligan uji dengan reseptor 3AQV. Semakin kecil nilai energi bebas ikatan menunjukkan konformasi yang semakin stabil (Purnomo 2013). Nilai tersebut dipengaruhi oleh berbagai interaksi ligan-reseptor. Jika dilihat dari

Tabel 2. Hasil Simulasi Penambatan Molekuler Senyawa Uji dan Pembanding

No	Senyawa/ Ligan Uji	ΔG (kkal/mol)	KI (μM)	Residu Asam amino	
				Ikatan Hidrogen	Ikatan Lain
Pembanding (<i>Native ligand</i>)					
1	Pirimidin	-7,79	1,94	VAL A:96	*LYS A:107, *GLY A:98, *GLY A:99, *GLU A:100, *TYR A:104, *ASP A:103, *GLY A:167, *MET A:164, *LYS A:45, *ASP A:157, ^^ILE A:77, ^^VAL A:30, ^^ALA156, ^MET A:93, ^^LEU A:22, ^^ALA A:43, ^TYR A:95, ***LEU A:146, **GLU A:94
2	Metformin	-5,16	165,64	SER A:165	GLU A:100, ASP A:103, ASP A:166, *LEU A:22, *GLY A:167, *GLU A:143, *MET A:164, *LEU A:146
Senyawa Uji					
1	Benzaldehide	-3,90	1370	VAL A : 96	^^ALA A : 43, ^^ALA A : 156, ^^VAL A : 30, ^MET A : 93, ^^ILE A : 77, **GLU A : 94, **TYR A : 95
2	Benzyl 2-hydroxyethyl trisulphide	-5,95	43,24	ASP A : 103	***LEU A:146, ^^LEU A:22, ^TYR A:95, ^^ALA A: 43, **GLY A:99
3	Myricitrin	-2,49	14880	VAL A:96, GLY A:167, ASP A:103	*VAL A:30, *MET A:164, *GLU A:168, *GLU A:100, **GLY A:99, *GLY A:98, ASP A:166, ^^LEU A:146, ^^LEU A:22, ^TYR A:95
4	Isoarborinol acetate	-7,57	2,84	-	*MET A:163, *LYS A:45, *MET A:93, *GLU A:94, *VAL A:96, *TYR A:95, *GLY A:99, *LYS A:107, *ASP A:103, *GLY A:167, *GLU A:100, VAL A:30, ALA A:43, ALA A:156, ILE A:77, LEU A:22, LEU A:146, MET A:164
5	Engeletin	-2,98	6530	ASP A:103, TYR A:95, GLY A:99, VAL A:96	***MET A:164, ***LEU A:146, ^^ALA A:43, ^^ALA A:156, ^^ILE A:77
6	Astilbin	-4,43	562,11	GLU A:96, VAL A:96	^^ALA A:43, ^^LEU A:146, ***LEU A:22, **TYR A:95
7	Barbinervic acid	-2,37	18340	GLY A:167	*GLU A:168 *ASP A:103 *ASP A:166 *GLU A:100 ^^LEU A:22 ^^VAL A:30 *ALA A:156 *ALA A:43 ^^TYR A:95 ^^LEU A:146 *VAL A:96 ^^MET A:164 *GLY A:99
8	Allantoin	-3,18	4630	GLY A:99 VAL A:96	*GLU A:94, **TYR A:95 *LEU A:146 *SER A:97 *LEU A:22 *MET A:164 *VAL A:30 *ALA A:43
9	Oleic Acid	-3,90	1370	-	MET A:164, ALA A:156, LYS A:45, VAL A:30

No	Senyawa/ Ligan Uji	ΔG (kcal/mol)	KI (μM)	Residu Asam amino	
				Ikatan Hidrogen	Ikatan Lain
Pembandingan (<i>Native ligand</i>)					
10	Coumarin	-4,56	453,19	VAL A:96	^^^ALA A:43 ***LEU A:146 *MET A:164 *GLY A:99 ^^LEU A:22 **TYR A:95 GLU A:94 *ILE A:77
11	Friedelinol	-3,74	1810	-	*ASP A:103 *GLU A:100 ^^LEU A:146 ^^MET A:164 ^^VAL A:30 ^^TYR A:95 ^^LEU A:22 *GLU A:94 ^^ALA A:43 *ILE A:77 *VAL A:96 *GLY A:99 *SER A:97 *GLY A:98 *TYR A:104
12	Isoarborinol	-7,45	3,45	-	^^VAL A:30 ^^ALA A:156 ^^LYS A:45 ^^ALA A:43 ^^ILE A:77 ^^MET A:164 ^^LEU A:146 ^^LEU A:22 ^^MET A:93 ^^TYR A:95

Keterangan:

*Van der waals

**Carbon hydrogen bond

***Pi-sigma

^Pi-sulfur

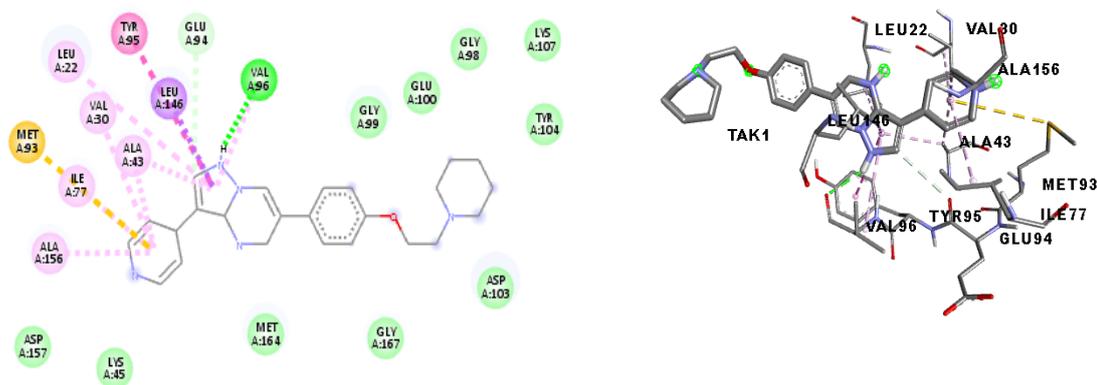
^^Pi-pi stacked

^^^Pi-alkyl

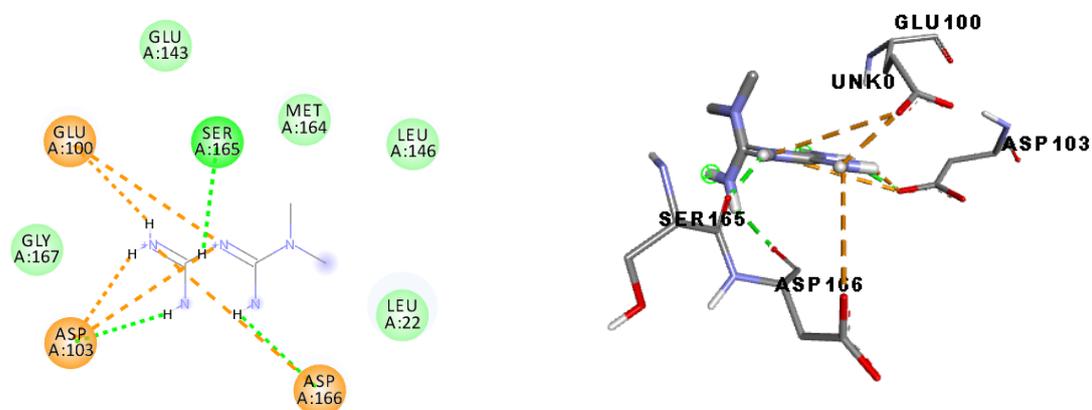
Salt Bridge and Attractive Charge

Unfavorable acceptor-acceptor

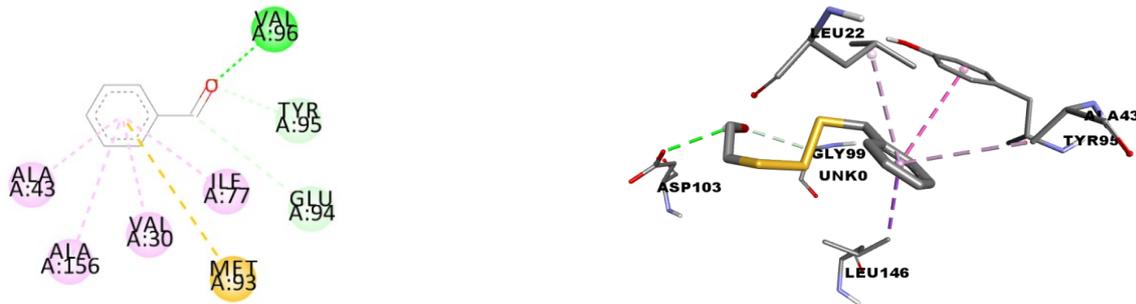
Alkyl



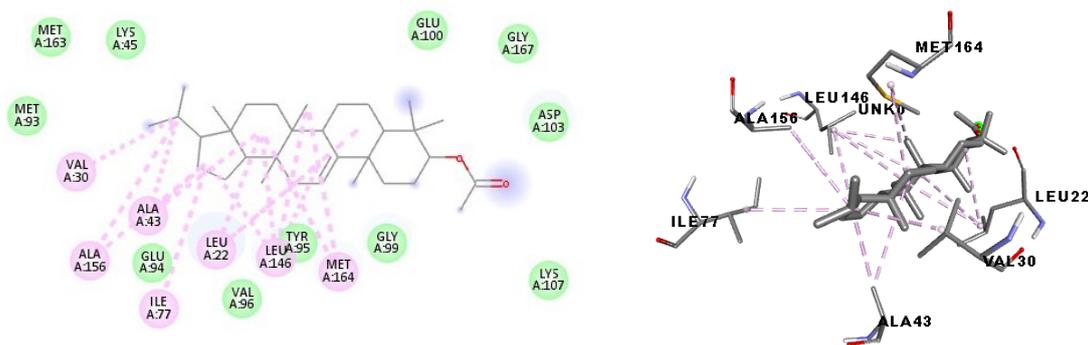
Gambar 1. Interaksi ikatan dan residu asam amino pirimidin dengan reseptor bentuk 2D dan 3D



Gambar 2. Interaksi ikatan dan residu asam amino metformin dengan reseptor bentuk 2D (kiri) dan 3D (kanan)



Gambar 3. Interaksi ikatan dan residu asam amino benzyl 2-hydroxyethyl trisulphide dengan reseptor bentuk 2D (kiri) dan 3D (kanan)



Gambar 4. Interaksi ikatan dan residu asam amino isoarborinol acetate dengan reseptor bentuk 2D (kiri) dan 3D (kanan)

energi bebas ikatan tersebut, maka terdapat tiga senyawa yang memiliki energi bebas ikatan lebih rendah daripada pembanding metformin, yaitu isoarborinol acetate sebesar -7,57, isoarborinol sebesar -7,45, dan benzyl 2-hydroxyethyl trisulphide sebesar -5,95.

Parameter lain yang dilihat dari hasil simulasi penambatan molekuler adalah konstanta inhibisi. Konstanta inhibisi merupakan parameter yang menunjukkan interaksi yang terjadi antara ligan dengan reseptornya (Ruswanto *et al.* 2015). Nilai konstanta inhibisi berbanding lurus dengan energi bebas Gibbs, semakin kecil nilai konstanta inhibisi semakin stabil interaksi yang terjadi. Maka senyawa yang memiliki konstanta inhibisi paling baik adalah senyawa isoarborinol acetate, isoarborinol, dan benzyl 2-hydroxyethyl trisulphide. Namun, jika dilihat dari jenis interaksi yang terjadi antara ketiga senyawa uji tersebut dengan reseptor AMPK- α 2, diketahui bahwa isoarborinol acetate dan isoarborinol tidak memiliki ikatan hidrogen. Hal tersebut menjadikan ligan mudah untuk kehilangan interaksi dengan reseptornya. Sedangkan, ikatan hidrogen yang terjadi antara senyawa benzyl 2-hydroxyethyl trisulphide dengan reseptor AMPK- α 2 berada pada residu asam amino ASP A : 103.

Residu asam amino pada ikatan hidrogen antara senyawa pembanding metformin dengan reseptor AMPK- α 2 adalah SER A:165 sedangkan dengan pirimidin adalah VAL A:96. Beberapa senyawa uji yang memiliki ikatan hidrogen pada residu asam amino yang sama seperti senyawa pembanding

metformin ataupun pirimidin, diantaranya yaitu senyawa benzaldehyde, myricitrin, engeletin, astilbin, allantoin, dan coumarin.

Bentuk kompleks ikatan serta residu asam amino yang relevan pada interaksi antara *native ligand*, senyawa pembanding, dan senyawa uji yang berasal dari singawalang dengan reseptor AMPK- α 2 dapat dilihat pada Gambar 1 sampai dengan Gambar 5.

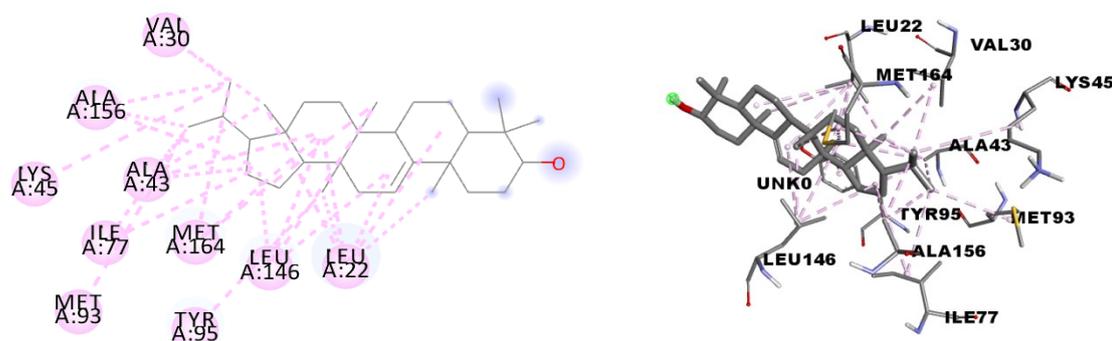
Prediksi ADMET

Tahap lanjutan dalam prosedur pemilihan senyawa yang potensial untuk kandidat obat ialah dilakukannya analisis ADME dan sifat toksisitasnya untuk mengurangi kemungkinan adanya kegagalan dalam pengembangan obat. Peninjauan ADME dan sifat toksisitasnya dilakukan menggunakan program PreADMET. Ada beberapa parameter yang digunakan dalam peninjauan ADMET ini yaitu diantaranya skor HIA, Caco2 sebagai aspek absorpsi, lalu PPB dan BBB sebagai aspek distribusi, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, dan CYP3A4 sebagai aspek metabolisme dan ekskresi serta dilihat potensi karsinogenik dan mutagenik untuk aspek toksisitasnya.

Berdasarkan energi Gibbs dan konstanta inhibisi, dipilih 3 senyawa yaitu terdiri dari senyawa benzyl 2-hydroxyethyl trisulphide, isoarborinol acetate dan isoarborinol untuk dilakukan perbandingan dengan metformin (obat pembanding). Skor HIA atau *Human Intestinal Absorption* merupakan parameter yang dapat memprediksi penyerapan zat aktif pada usus manusia. Dimana skor HIA ini memiliki 3 tingkatan

yaitu tergolong rendah apabila skor HIA 0-20%, tergolong sedang apabila skor HIA 20-70%, dan tergolong tinggi apabila skor HIA 70-100%. Dilihat dari hasil yang didapat, skor HIA dari ketiga senyawa

uji merupakan nilai yang baik dikarenakan senyawa tersebut dapat dengan baik terabsorpsi di usus dikarenakan skor HIA berada pada rentang 70-100%. Skor HIA ketiga senyawa uji inipun memiliki skor



Gambar 5. Interaksi ikatan dan residu asam amino isoarborinol dengan reseptor bentuk 2D (kiri) dan 3D (kanan)

Tabel 3. Hasil PreADMET

No	Senyawa	Absorpsi		Distribusi		Metabolisme				Toksitas	
		HIA (%)	Caco2	PPB (%)	BBB (%)	CYP2C19	CYP2C9	CYP2D6	CYP3A4	Mutagen	Karsinogen (Mouse/Rat)
1.	Metformin (Pembanding)	45,66	45,66	3,95	0,22	Yes	No	No	No	Mutagen	Positive / Positive
2.	Benzyl 2-hydroxyethyl trisulphide	97,63	51,56	84,61	0,1	Yes	Yes	No	Yes	Mutagen	Negative / Negative
3.	Isoarborinol	100,0	47,1	100,0	20,56	No	Yes	No	Yes	Non Mutagen	Positive / Positive
4.	Isoarborinol acetate	100,0	51,61	100,0	16,28	No	Yes	No	Yes	Non Mutagen	Positive / Positive
5.	Benzaldehyde	100,0	21,87	4,5	1,39	Yes	Yes	No	Yes	Mutagen	Negative / Negative
6.	Myricitrin	11,64	6,14	65,37	0,03	Yes	Yes	No	Yes	Non Mutagen	Negative / Negative
7.	Engeletin	41,98	8,17	74,48	0,04	Yes	Yes	No	Yes	Non Mutagen	Negative / Negative
8.	Astilbin	21,55	7,36	76,44	0,03	Yes	Yes	No	Yes	Non Mutagen	Negative / Negative
9.	Barbinervic acid	91,23	20,92	95,45	0,62	No	Yes	No	Yes	Non Mutagen	Positive / Positive
10.	Allantoin	35,76	15,73	12,0	0,12	Yes	No	No	No	Mutagen	Negative / Positive
11.	Oleic Acid	98,43	28,19	100,0	7,48	Yes	Yes	No	Yes	Mutagen	Positive / Positive
12.	Coumarin	100,0	32,12	43,39	1,56	Yes	Yes	No	No	Mutagen	Positive / Positive
13.	Friedelinol	100,0	45,94	100,0	20,76	No	Yes	No	Yes	Non Mutagen	Negative / Positive

HIA yang lebih tinggi dibandingkan metformin (Cheng *et al.* 2013).

Selain itu untuk menilai absorpsi kandidat senyawa obat, dapat dilakukan juga pengujian sel Caco2. Pengujian sel Caco2 digunakan sebagai model *in vitro* untuk memprediksi adanya penyerapan zat aktif obat / transport obat yang diberikan secara oral melalui epitel intestinal. Dilihat dari hasil, ketiga senyawa uji memiliki kemampuan permeabilitas atau serapan sedang pada sel Caco2 karena berada pada rentang 4-70 nm/detik dan memiliki nilai yang lebih baik dari metformin (Yazdani *et al.* 1998).

Pada aspek distribusi dilakukan peninjauan PPB dan BBB. Dimana PPB atau *Protein Plasma Binding* merupakan parameter yang digunakan untuk memprediksi distribusi suatu obat berdasarkan keterikatan obat dengan protein plasma. Nilai PPB digolongkan menjadi dua yaitu apabila memiliki nilai yang lebih dari 90% maka mengikat secara kuat dengan protein plasma sedangkan apabila nilainya kurang dari 90% maka ikatannya lemah dengan protein plasma. Suatu obat dikatakan efisien apabila dapat dengan bebas melewati membran dan mencapai target dibandingkan berikatan dengan protein plasma. Dari hasil yang didapat, senyawa benzyl 2-hydroxyethyl trisulphide dan metformin memiliki aktivitas ikatan yang lemah dengan protein plasma dikarenakan nilai PPB kurang dari 90%. Sedangkan isoarborinol dan isoarborinol acetate memiliki ikatan yang kuat dengan protein plasma dikarenakan nilai PPB lebih dari 90% (Kumar *et al.* 2018).

Sedangkan BBB atau *Blood Brain Barrier* merupakan parameter yang digunakan untuk melihat kemampuan suatu obat dapat berpenetrasi hingga daerah sawar otak atau tidak. BBB termasuk salah satu parameter terpenting dikarenakan pada senyawa uji yang memiliki aktivitas pada sistem saraf pusat harus memiliki kemampuan untuk berpenetrasi ke daerah sawar otak. Sebaliknya, apabila target dari obat tidak berhubungan dengan aktivitas sistem saraf pusat maka tidak boleh berpenetrasi sampai ke daerah sawar otak karena bisa menimbulkan adanya efek samping pada sistem saraf pusat. Dilakukan peninjauan BBB dan didapatkan hasilnya bahwa nilai BBB dari metformin dan benzyl 2-hydroxyethyl trisulphide masuk ke dalam rentang menengah yaitu 0,1 hingga 2 yang menandakan bahwa kedua senyawa ini mempunyai kemampuan sedang untuk berpenetrasi ke daerah sawar otak. Sedangkan nilai BBB dari senyawa isoarborinol dan isoarborinol acetate menandakan bahwa kedua senyawa ini mempunyai kemampuan tinggi untuk berpenetrasi ke daerah sawar otak karena memiliki nilai BBB lebih dari 2 (Kumar *et al.* 2018).

Aspek yang perlu diperhatikan selanjutnya yaitu metabolisme dan ekskresi. Peninjauan aspek ini dapat dilakukan dengan melihat apakah senyawa uji memiliki aktivitas yang sama dengan senyawa/ obat pembandingnya dalam hal inhibisi pada CYP2C19,

CYP2C9, CYP2D6, dan CYP3A4. Dari hasil peninjauan didapatkan bahwa senyawa benzyl 2-hydroxyethyl trisulphide memiliki aktivitas sebagai inhibitor pada CYP2C19, CYP2C9, dan CYP3A4. Senyawa isoarborinol dan isoarborinol acetate memiliki aktivitas sebagai inhibitor pada CYP2C9 dan CYP3A4. Sedangkan metformin hanya menunjukkan aktivitas sebagai inhibitor pada CYP2C19. Maka senyawa uji yang memiliki aktivitas inhibisi yang mirip dengan metformin yaitu senyawa benzyl 2-hydroxyethyl trisulphide.

Terakhir aspek yang perlu diperhatikan ialah aspek toksisitasnya. Pengujian aspek toksisitas dapat dilakukan dengan *Ames Test* yang digunakan untuk melihat apakah senyawa uji memiliki potensi sifat mutagen atau tidak, dan dilakukan pengujian terhadap tikus dan mencit untuk mengetahui potensi karsinogenik dari senyawa obat (Hardjono 2016). Dari hasil peninjauan didapatkan bahwa senyawa metformin memiliki potensi bersifat mutagenik dan karsinogenik, senyawa isoarborinol dan isoarborinol acetate memiliki potensi bersifat karsinogenik, sedangkan senyawa uji benzyl 2-hydroxyethyl trisulphide memiliki potensi bersifat mutagenik.

KESIMPULAN

Senyawa terbaik dari isolat daun singawalang yang memiliki potensi sebagai penurun kadar glukosa darah dalam pengobatan penyakit diabetes melitus adalah senyawa benzyl 2-hydroxyethyl trisulphide karena memiliki interaksi dan afinitas terbaik terhadap reseptor AMPK- α 2. Energi Gibbs dan Ki benzyl 2-hydroxyethyl trisulphide lebih rendah daripada senyawa pembanding dengan nilai Energi Gibbs -5,95 dan Ki 43,24 μ M. Sedangkan prediksi aktivitas ADME dan toksisitas dengan *ADMET Predictor* menunjukkan bahwa senyawa benzyl 2-hydroxyethyl trisulphide dapat dikatakan cukup baik berdasarkan beberapa parameter. Namun, perlu diperhatikan bahwa senyawa bersifat mutagenik sehingga perlu dilakukan modifikasi struktur untuk mengurangi efek mutagen tersebut.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Tuhan Yang Maha Esa sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini. Terima kasih juga kepada para dosen pengampu, asisten dosen, serta teman-teman yang telah membantu menyelesaikan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Cheng J., Palva A.M., de Vos W.M. & Satokari R. (2011) Contribution of the Intestinal Microbiota to Human Health: From Birth to 100 Years of Age. In: Dobrindt U., Hacker J., Svanborg C. (eds) *Between Pathogenicity and Commensalism. Current Topics in Microbiology and Immunology*. vol 358. pp 323-346. Springer. Berlin.

- Hardjono, S. (2016). Prediksi sifat farmakokinetik, toksisitas dan aktivitas sitotoksik turunan N-benzoyl-N'-(4-fluorofenil)tiourea sebagai calon obat antikanker melalui pemodelan molekul. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. **14(2)**: 246-255.
- Harmita, H. (2012). Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya. *Pharmaceutical Sciences and Research*. **1(3)**: 117-135.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2020). *Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran Tata Laksana Diabetes Melitus Tipe 2 Dewasa*. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Kumar, R., Giri, A. & Nadendla, R.R. (2018). In silico ADME profiling of CDK9 inhibitors. *Journal of Scientific Research in Pharmacy*. **7(3)**: 30-34.
- Mustika, A., Indrawati, R., & Sari, G.M. (2017). Efek ekstrak daun singawalang (*Petiveria alliacea*) dalam menurunkan kadar glukosa darah melalui peningkatan ekspresi AMPK- α 1 pada tikus model diabetes melitus. *Jurnal Farmasi Klinik Indonesia*. **6(1)**: 22-31.
- Muttaqin, F.Z., Ismail, H. & Muhammad, H.N.. (2019). Studi molecular docking, molecular dynamic, dan prediksi toksisitas senyawa turunan alkaloid naftiridin sebagai inhibitor protein kasein kinase 2- α pada kanker leukemia. *Pharmacoscrypt*. **2(1)**: 49-64.
- Purnomo, H. (2013). *Kimia Komputasi Uji In Silico Senyawa Anti Kanker*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta.
- Ruswanto, R. Ratnasari, A. & Tuslinah, L. (2015). Sintesis senyawa N'-(3,5-dinitrobenzoyl)-isonicotinohydrazide dan studi interaksinya pada mycobacterium tuberculosis enoyl acyl carrier protein reductase (INHA). *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*. **14(1)**: 63-73.
- Tropical Plant Database. (2013). Tropical Plant Database Entry for Anamu-*Petiveria alliacea*. Present at <http://raintree.com/anamu.htm> , 27 May
- Yazdanian, M., Glynn, S.L., Wright, J.L. & Hawi, A. (1998). Correlating partitioning and Caco-2 cell permeability of structurally diverse small molecular weight compounds. *Pharmaceutical Research*. **15(9)**: 1490-1494.
-