



Analisis *In Silico* Naringenin dari Umbi Akar Batu (*Gerrardanthus macrorhizus Harv.ex Benth. & Hook.f.*) sebagai Antitusif terhadap Reseptor *N-methyl-D-aspartate*

***In Silico* Analysis of Naringenin from Stone Root Tubers (*Gerrardanthus macrorhizus Harv.ex Benth. & Hook.f.*) as Antitusive Against *N-methyl-D-aspartate* Receptor**

Maria Angelina Genere Koban^{1*}, Sri Rahayu Lestari¹, Frida Kunti Setiowati¹

¹*Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Malang
Jl. Semarang No.5, Malang, Jawa Timur, Indonesia
Email: maria.angelina2003428@students.um.ac.id*

**Penulis Korespondensi*

Abstract

Cough is a natural defense reflex of the body which clears the respiratory tract of foreign objects. Dextromethorphan is an antitussive drug that is a non-competitive channel blocker antagonist against the N-methyl-D-aspartate receptor which is able to suppress cough at the center of the cough threshold. This study aims to analyze the potential of naringenin as an antitussive based on its binding affinity to the NMDA receptor, pharmacokinetic properties, biooral potential, and toxicity through an *in silico* approach with molecular docking technique. The results showed that dextromethorphan and naringenin bind at the same amino acid residues as NMDA at MET A: 145, ILE A: 85, ALA B: 888 with hydrophobic Bonds, SER A: 81 with hydrogen bonds at dextromethorphan and donor-donor unfavorable bonds at naringenin. The binding affinity value of naringenin -6.7 kcal/mol is smaller than that of dextromethorphan -6.4 kcal/mol, showing that naringenin has almost the same antitussive potential as dextromethorphan. Toxicity test results showed that naringenin and dextromethorphan can be taken orally and is not harmful to health. Biooral potency analysis and pharmacokinetic tests prove that naringenin is able to be absorbed, distributed, metabolized, and excreted so that it has the potential as an antitussive drug candidate.

Keyword: Antitussive, Dextromethorphan, *In Silico*, N-methyl-D-aspartate, Stone Root Tubers

Abstrak

Batuk merupakan refleks pertahanan tubuh alami yang membersihkan saluran pernapasan dari benda asing. Dekstrometorfan merupakan obat antitusif yang bersifat antagonis non-competitive channel blocker terhadap reseptor N-Methyl-D-aspartate yang mampu menekan batuk di pusat ambang batuk. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis potensi naringenin sebagai antitusif berdasarkan nilai afinitas pengikatannya dengan reseptor NMDA, sifat farmakokinetik, potensi biooral dan toksisitas melalui pendekatan *in silico* dengan teknik molecular docking. Hasil penelitian menunjukkan, bahwa dekstrometorfan dan naringenin berikatan di residu asam amino yang sama dengan NMDA pada MET A: 145, ILE A: 85, ALA B: 888 dengan ikatan hidrofobik, SER A: 81 dengan ikatan hidrogen pada dekstrometorfan dan ikatan unfavorabel donor-donor pada naringenin. Nilai binding affinitas naringenin -6,7 kkal/mol lebih kecil dibandingkan dengan dekstrometorfan -6,4 kkal/mol, hal ini menunjukkan bahwa naringenin berpotensi sebagai antitusif yang hampir sama dengan dekstrometorfan. Hasil uji toksisitas, menunjukkan bahwa naringenin dan dekstrometorfan dapat dikonsumsi secara oral dan tidak berbahaya bagi kesehatan. Analisis potensi biooral dan uji farmakokinetik membuktikan bahwa naringenin mampu diabsorpsi, didistribusi, dimetabolisme dan diekskresi, sehingga berpotensi sebagai kandidat obat antitusif.

Kata kunci: Antitusif, Dekstrometorfan, *In Silico*, N-metil-D-aspartat, Umbi Akar Batu

Diterima: 31 Mei 2022, disetujui: 14 Juli 2022

Pendahuluan

Batuk merupakan refleks pertahanan tubuh alami untuk melindungi diri dari zat asing (Sykes & Morice, 2021), serta bertindak sebagai mekanisme fisiologis untuk membersihkan saluran pernapasan dari benda asing dan lendir yang berlebihan (Fuller & Jackson, 1990). Keluhan batuk umumnya merupakan gejala yang sering terjadi di masyarakat, dan sekitar 40% pasien dirujuk ke dokter untuk mendapatkan diagnosis yang tepat (Sharma et al., 2022). Batuk dapat menjadi gejala infeksi pernapasan seperti tuberculosis, tumor paru, asma, bronkitis kronis, hal refluks gastroesofageal (Mukae et al., 2021). Studi lainnya juga melaporkan, bahwa batuk kering juga menjadi gejala umum dari Covid-19, sekitar 60%-70% pasien mendapatkan keluhan ini (Song et al., 2021; Wu et al., 2020). Barry et al., (2006) melaporkan, bahwa prevalensi batuk bervariasi antara 3-40%. Di Indonesia angka kejadian batuk akibat infeksi saluran pernapasan atas sekitar 4,3-4,5% dari total kasus 1.017.290. Riset Kementerian Kesehatan juga memperkirakan kejadian batuk akibat merokok akan terus bertambah dikarenakan jumlah perokok di Indonesia sangat tinggi, yaitu sekitar 33,8%. Peningkatan jumlah remaja perokok dengan usia 10 sampai 18 tahun pun bertambah dari 7,2% menjadi 9,1% di tahun 2018 (Riskesmas, 2018). Penanganan batuk perlu dilakukan sedini mungkin untuk menghindari penyakit pernapasan yang kronis.

Upaya pengendalian batuk yang efektif disesuaikan dengan penyakit yang menyebabkan batuk dan mekanisme batuknya (Chung & Pavord, 2008). Tindakan farmakologis pengobatan batuk umumnya bersifat simptomatik (Simasek & Blandino, 2007) sedangkan tindakan non-farmakologis dilakukan dengan memanfaatkan obat-obatan tradisional, seperti madu dan daun mint (Malesker et al., 2017). Obat batuk digunakan berdasarkan jenis batuknya, obat antitusif untuk batuk tidak berdahak, sedangkan ekspektoran dan mukolitik untuk batuk berdahak (Beers, M. H. Fletcher, A. J. Jones, T. V. Porter, 2003; Blasio et al., 2011). Obat-obatan antitusif bekerja secara perifer dan sentral (Reynolds et al., 2004). Obat yang digunakan sebagai

antitusif ialah dekstrometorfan yang bekerja secara sentral pada sistem saraf pusat untuk menggantikan penggunaan kodein yang bersifat narkotik (Chyka et al., 2007; Gershman & Fass, 2013). Dekstrometorfan terbukti mengikat serangkaian reseptor, salah satunya reseptor glutamat NMDA (Dicpinigaitis et al., 2014).

Senyawa aktif dekstrometorfan merupakan antagonis reseptor glutamat NMDA (*n-Methyl-d-aspartate*) dan bertindak sebagai *non-competitive channel blocker* (Hargreaves et al., 1993; Siu & Drachtman, 2007). Analisis fisiologis dan farmakologis mengungkapkan, bahwa reseptor glutamat NMDA yang terletak di sinapsis sentral berperan mengatur refleks batuk (Mutolo et al., 2010). Reseptor glutamat memfasilitasi masuknya ion Na^+ dan Ca^{2+} ke dalam sel serta K^+ keluar sel. Reseptor glutamat memiliki permeabilitas yang tinggi terhadap Ca^{2+} (Kim et al., 2020) dan berperan penting dalam transmisi sinaptik rangsang, plastisitas dan neurodegenerasi di sistem saraf pusat (Hansen et al., 2018). Reseptor glutamat NMDA memiliki afinitas terhadap ion Mg^{2+} sehingga ion Mg^{2+} dapat mengikat reseptor NMDA dan memblokir kanal ion yang dilewati oleh ion Na^+ dan Ca^{2+} (Klima et al., 2021). Depolarisasi membran postsinaps akan membebaskan ion Mg^{2+} yang menyebabkan kanal ion tidak terblokir, sehingga ion Na^+ dan Ca^{2+} dapat masuk ke dalam sel dan memicu jalur sinyal spesifik (Papadia & Hardingham, 2007).

Penggunaan dekstrometorfan selama 60 tahun oleh masyarakat sebagai obat antitusif yang dijual bebas (OTC) (Brown et al., 2018) menjadi kekhawatiran dalam dunia kedokteran karena disalahgunakan sebagai obat psikoaktif (Mutschler et al., 2010). Penggunaan dekstrometorfan pada dosis yang rendah memberikan sedikit efek samping, rata-rata, dosis normal dekstrometorfan adalah 15 hingga 30 mg yang diminum tiga hingga empat kali sehari. Pemberian dosis yang tinggi dapat menyebabkan keracunan dan efek halusinasi (Schwartz, 2005). Dekstrometorfan yang dikombinasikan dengan minuman keras dapat menyebabkan kematian (Akerman et al., 2010). Di Indonesia kematian akibat mengonsumsi dekstrometorfan yang dicampur dengan alkohol terjadi pada remaja putri di Padangsidimpuan pada bulan Agustus 2018 (Saputra et al., 2021).

Banyaknya efek samping yang ditimbulkan oleh dekstrometorfan memberikan peluang bagi para peneliti mengeksplorasi material baru dengan pendekatan baru sebagai upaya pengembangan obat batuk dengan memanfaatkan senyawa dari tumbuhan.

Umbi Akar Batu (*Gerrardanthus macrorhizus* Harv.ex Benth. & Hook.f.) adalah tanaman famili *Cucurbitaceae* yang dimanfaatkan oleh masyarakat di Maumere untuk pengobatan batuk. Kandungan senyawa aktif Umbi Akar Batu yang dapat dieksplorasi kegunaannya adalah naringenin. Guan *et al.*, (2020) melaporkan, bahwa senyawa naringenin yang merupakan golongan Flavonoid pada buah jeruk (*Citrus*) terbukti memiliki efek antitusif dan ekspektoran secara *in vitro* dan *in vivo*. Naringenin sebagai ekspektoran dapat menghambat peningkatan musin yang diinduksi oleh lipopolisakarida (Lin *et al.*, 2008). Hasil dari banyak penelitian juga membuktikan, bahwa naringenin memiliki berbagai bioaktivitas seperti antioksidan, antiinflamasi, dan antivirus (Tutunchi *et al.*, 2020), namun hingga saat ini penelitian terkait potensi senyawa naringenin pada tanaman umbi akar batu sebagai kandidat antitusif belum dilakukan. Oleh karena itu, perlu dilaksanakan penelitian awal untuk menganalisis potensi senyawa naringenin yang terkandung dalam tanaman umbi akar batu sebagai antitusif dengan memanfaatkan teknologi komputasi melalui pendekatan *in silico*. Hasil penelitian ini dapat menjadi pijakan untuk penelitian pada tanaman lainnya yang juga memiliki senyawa aktif naringenin dan berpotensi sebagai antitusif. Pendekatan *in silico* efektif dalam penemuan dan perancangan senyawa dengan menganalisis afinitas pada target, sifat absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas serta karakterisasi fisikokimia (Ekins *et al.*, 2007; Roncaglioni *et al.*, 2013).

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis potensi senyawa naringenin pada tanaman umbi akar batu sebagai antitusif secara *in silico* dengan menggunakan senyawa pembanding dekstrometorfan dan protein target reseptor glutamat NMDA.

Metode Penelitian

Penelitian yang digunakan adalah deskriptif kualitatif dengan pendekatan secara *in silico* untuk menganalisis interaksi antara senyawa yang terdapat pada tanaman umbi akar batu dan protein target serta membandingkannya dengan senyawa kontrol. Teknik analisis yang digunakan adalah molecular docking untuk mengetahui sisi ikatan senyawa dengan protein target yang berdasarkan jenis residu asam aminonya.

Perangkat keras yang digunakan, yaitu Laptop dengan spesifikasi prosesor Intel (R) Celeron (R) N4000 CPU @ 1.10GHz, RAM 4,00GB, dan Windows 10 64-bit sebagai sistem operasi. Perangkat lunak yang digunakan adalah PyMol, PyRx, Discovery Studio, dan Toxtree.

Preparasi Ligan

Tahap awal yang dilakukan adalah mengkoleksi informasi dari senyawa naringenin dan dekstrometorfan berupa CID, canonical smile, serta struktur 3D dari senyawa naringenin dan deksterometorfan dari database PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dalam format *Sybil Data Files* (*.sdf).

Preparasi Protein Target

Penentuan protein target dapat diprediksi melalui *webservice Swiss Target Prediction, PharmMapper, dan SuperPred* dengan menggunakan Canonical Smiles dari naringenin. Informasi mengenai protein target dapat diperoleh melalui web database Uniprot. Uniprot ID: Q05586. Struktur 3D protein target diunduh pada *webservice Protein Data Bank* (<http://www.rcsb.org>) dengan PDB ID 2HQW pada Organisme Homo Sapiens dengan X-Ray diffraction dan resolusi pengukuran 1,90 Å dan disimpan dalam ekstensi PDB (*.pdb).

Uji Potensi Biooral

Uji potensi naringenin untuk dapat dikonsumsi secara oral dilakukan dengan membandingkan sifat fisikokimia dengan aturan Lipinski. Kriteria lipinski meliputi: (1) Berat molekul ≤ 500 dalton, (2) $\text{LogP} \leq 5$, (3) Donor ikatan H ≤ 5 , (4) Akseptor ikatan H ≤ 10 , dan (5) *Molar Refractivity* (40-130).

Uji Farmakokinetik

Uji farmakokinetik bertujuan mengetahui penyerapan, distribusi, metabolisme, dan ekskresi suatu senyawa menggunakan

webservice pkCSM online yang diunduh dari <http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/prediction>.

Molecular Docking

Tahap persiapan yang dilakukan, yakni mengubah ekstensi file naringenin dan dekstrometorfan menjadi format PDB, setelah itu penghilangan protein target dari ligan dan molekul air yang menempel pada strukturnya menggunakan software PyMOL. Tahap docking selanjutnya menggunakan software PyRx dengan AutoDock Vina (<http://pyrx.sourceforge.io>). Semua komponen di konversi ke dalam Format AutoDock Macromolekul dan AutoDock Ligand (pdbqt). Setelah makromolekul dan senyawa protein target dipilih, koordinat docking ditentukan. Koordinat pusat tempat interaksi ligan dan protein yaitu X: 26.9713, Y: -17.534, Z: 17.0877 dan dimensi (luas cakupan molekul dalam Angstrom), X: 35.9799, Y: 49.4091, Z: 40.2184. Hasil docking berupa nilai afinitas dalam kkal/mol, lokasi *binding site*, dan interaksi protein-ligan yang diketahui melalui proses visualisasi.

Visualisasi Hasil Docking

Hasil docking divisualisasi dengan menggunakan software PyMOL dan *Discovery Studio*. Hasil visualisasi dengan PyMOL berupa struktur 3D untuk melihat posisi pengikatan naringenin dan dekstrometorfan pada protein

target. Selanjutnya dilakukan visualisasi 2D dengan *Discovery Studio* untuk memastikan apakah sisi aktif pengikatan naringenin dan dekstrometorfan terletak pada residu asam amino yang sama, serta untuk mengetahui jenis interaksi, jarak ikatan hidrogen dan hidrofobik.

Toksistas Senyawa

Uji Toksistas naringenin dan dekstrometorfan dapat dilakukan dengan menggunakan software *Toxtree* melalui *Kroes TTC decision tree*.

Hasil dan Pembahasan

Informasi terkait Senyawa Prediksi Naringenin, Senyawa Kontrol Dekstrometorfan, dan Protein Target Reseptor NMDA

Data senyawa naringenin yang diperoleh berdasarkan pencarian pada web database PubChem dapat dilihat pada Tabel 1. Senyawa kontrol yang digunakan pada penelitian ini adalah dekstrometorfan. Dekstrometorfan merupakan antagonis reseptor glutamat NMDA yang digunakan sebagai obat antitusif untuk menekan batuk. Data informasi terkait senyawa kontrol dekstrometorfan berdasarkan web database PubChem dapat dilihat pada Tabel 2 sebagai berikut.

Tabel 1. Data Senyawa Naringenin

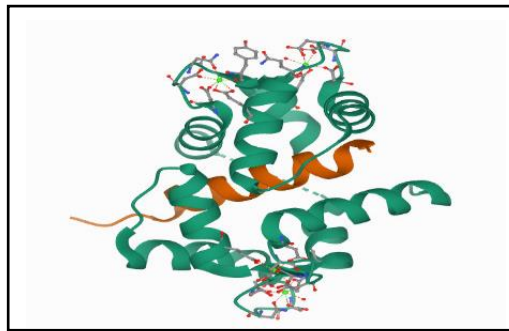
No	Karakter	Keterangan
1.	Nama	5,7-Dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chroman-4-one; Naringenin
2.	CID	932
3.	Canonical Smiles	<chem>C1C(OC2=CC(=CC(=C2C1=O)O)O)C3=CC=C(C=C3)O</chem>

Tabel 2. Data Senyawa Dekstrometorfan

No	Karakter	Keterangan
1.	Nama	Dekstrometorfan
2.	CID	5360696
3.	Canonical Smiles	<chem>CN1CCC23CCCCC2C1CC4=C3C=C(C=C4)OC</chem>

Protein target hasil pencarian untuk naringenin menggunakan webservice *Swiss Target Prediction*, *PharmMapper*, dan *SuperPred* adalah Reseptor Glutamat NMDA

(Uniprot ID: Q05586; PDB ID: 2HQW). Struktur 3D protein target yang diunduh melalui PDB dengan resolusi pengukuran 1,90 Å dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Struktur 3D Reseptor Glutamat NMDA (Sumber : <https://www.rcsb.org/structure/2HQW>)

Potensi Biooral Naringenin dan Dekstrometorfan

Senyawa naringenin dan dekstrometorfan dapat dikonsumsi peroral apabila memenuhi beberapa aturan Lipinski. Berdasarkan aturan Lipinski suatu senyawa memiliki penyerapan atau permeabilitas yang

buruk jika jumlah donor proton ikatan hidrogen > 5, jumlah akseptor proton ikatan hidrogen > 10, berat molekul > 500 gram/mol, log P (ClogP) > dari 5, dan *molar refractivity* (40-130) (Lipinski *et al.*, 2001). Data hasil perbandingan sifat fisika dan kimia senyawa naringenin serta dekstrometorfan tertera pada tabel 3.

Tabel 3. Data Perbandingan Sifat Fisika dan Kimia Senyawa Naringenin dan Dekstrometorfan Berdasarkan Aturan Lipinski

Kriteria	Aturan Lipinski	Dekstrometorfan	Naringenin
Molecular Weight	≤ 500	271,4 g/mol	272,25 g/mol
XLogP3	≤ 5	3,4	2,4
Hydrogen Bond Donor Count	≤ 5	0	3
Hydrogen Bond Acceptor Count	≤ 10	2	5
Molar Refractivity	40-130	86,48	71,57

Berdasarkan Tabel 3 diketahui, bahwa senyawa naringenin dan dekstrometorfan memenuhi kriteria aturan Lipinski. Kedua senyawa tersebut memiliki tingkat kelarutan di dalam lemak/air yang baik, mudah diabsorpsi dan sisa metabolismenya dapat diekskresi. Dengan demikian dapat diasumsikan, bahwa kedua senyawa tersebut mampu berdifusi ke dalam membran sel tubuh dengan baik. Kisaran rentangan nilai Log P yang memenuhi aturan Lipinski adalah -4 sampai 5. Nilai log P yang terlalu negatif mengakibatkan suatu molekul tidak dapat melewati membran lipid bilayer, sehingga menyebabkan terjadinya interaksi antar molekul dan pelarut air (Lipinski *et al.*, 2001). Nilai LogP dari naringenin dan dekstrometorfan ≤ 5, hal ini berarti, bahwa kedua senyawa cenderung larut dalam pelarut nonpolar dan mampu menembus membran *lipid bilayer*. Selain itu, senyawa Naringenin memenuhi kriteria bioavailabilitas oral karena memiliki berat molekul kurang dari 500 gram/mol yang berarti, bahwa tidak membutuhkan waktu yang lama untuk berdifusi

menembus membran sel dan mudah untuk diabsorpsi tubuh. Jumlah donor dan akseptor ikatan hidrogen mendeskripsikan semakin tinggi kapasitas ikatan hidrogen, maka semakin tinggi energi yang dibutuhkan agar proses absorpsi dapat terjadi (Weni *et al.*, 2020). Jumlah donor dan akseptor ikatan hidrogen dari kedua senyawa memenuhi kriteria, sehingga tidak membutuhkan banyak energi untuk proses absorpsi. Nilai *molar refractivity* menunjukkan total polarisabilitas suatu molekul obat (Ruswanto *et al.*, 2022). Senyawa naringenin dan dekstrometorfan memenuhi kriteria nilai MR pada aturan lipinski. Dengan demikian, dapat disimpulkan, bahwa kedua senyawa tersebut memenuhi aturan Lipinski, sehingga dapat dikonsumsi secara oral.

Farmakokinetik Senyawa Naringenin dan Dekstrometorfan

Sifat farmakokinetik suatu senyawa merupakan prosedur penting yang perlu dilakukan dalam penemuan dan pengembangan obat. Sifat farmakokinetik yang tidak

menguntungkan menjadi penyebab utama gagalnya pengembangan obat (Ru et al., 2014). Prediksi efektifitas dan efek samping suatu senyawa ditentukan melalui sifat

farmakokinetik. Data farmakokinetik senyawa dekstrometorfan dan naringenin dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Data Sifat Farmakokinetik Senyawa Naringenin dan Dekstrometorfan

Parameter		Senyawa	
		Dekstrometorfan	Naringenin
Absorpsi	Absorpsi Pencernaan manusia (%)	97,23	91,31
Distribusi	Volume Distribusi manusia (log L/Kg)	1,25	-0,01
	<i>Blood Brain Barrier Permeability</i> (log BB)	0,69	-0,57
Metabolisme	Substrat CYP2D6	Tidak	Tidak
	Inhibitor CYP2D6	Ya	Tidak
Eksresi	Total <i>Clearance</i> (log ml/min/kg)	0,96	0,06

Senyawa naringenin memiliki sifat farmakokinetik yang baik berdasarkan kemampuan absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi. Kemampuan absorpsi suatu senyawa dikategorikan baik bila persentasinya berkisar antara 70-100%. Pada Tabel 4, diketahui bahwa daya absorpsi naringenin dan dekstrometorfan sebesar 91,31% dan 97,23%, maka kedua senyawa tersebut dikategorikan baik, yang berarti naringenin dan dekstrometorfan dapat diserap oleh tubuh dengan baik. Menurut Pires et al., (2015) senyawa dikatakan memiliki volume distribusi rendah apabila nilai log VDss < -0.15 dan tinggi bila > 0,45. Semakin tinggi nilai VDss, maka semakin besar jumlah obat yang didistribusikan ke jaringan daripada plasma. Volume distribusi dekstrometorfan 1,25 > 0,45, nilai VDss naringenin -0,01 > -0,15. Dengan demikian dapat diketahui, bahwa dekstrometorfan dan naringenin mempunyai kemampuan untuk didistribusikan di jaringan daripada plasma. Senyawa dapat menembus sawar darah otak apabila mempunyai nilai Log BB > 0,3 dan tak dapat terdistribusi dengan baik bila Log BB < -1. Nilai Log BB dekstrometorfan 0,698 dan naringenin -0,578 menunjukkan, bahwa dekstrometorfan mampu menembus sawar darah otak dan senyawa naringenin dapat terdistribusi dengan baik. Senyawa dekstrometorfan dan naringenin bukan substrat dari CYP2D, sehingga tidak dimetabolisme oleh P450. Dekstrometorfan sebagai inhibitor CYP2D6 mempengaruhi metabolisme obat oleh enzim P450 di hati dan dapat mengubah farmakokinetik obat, sedangkan naringenin noninhibitor CYP2D6 dimetabolisme oleh

enzim P450 di hati, sehingga tidak berpengaruh terhadap farmakokinetik obat. Parameter klirens merupakan eliminasi obat, laju eliminasi obat bergantung pada konsentrasi (Smith et al., 2019). Semakin besar nilai klirens, maka nilai laju eliminasi semakin besar, sehingga laju eliminasi obat dari dalam tubuh semakin cepat. Nilai total *Clearance* dekstrometorfan 0,964 dan naringenin 0,06. Hal ini menunjukkan, bahwa dekstrometorfan memiliki laju eliminasi obat lebih cepat daripada naringenin. Secara keseluruhan dapat disimpulkan, bahwa naringenin dan dekstrometorfan dapat diabsorpsi dan didistribusikan di jaringan daripada plasma, mampu melewati sawar darah otak, dan naringenin tidak menghambat biotransformasi obat yang dimetabolisme oleh enzim CYP450 di hati, sebaliknya dekstrometorfan sebagai inhibitor CYP2D6 dapat mempengaruhi metabolisme obat di hati. Sifat farmakokinetiknya baik dari naringenin menjadikannya sebagai kandidat obat antitusif yang tidak membahayakan kesehatan.

Docking Senyawa Naringenin dan Dekstrometorfan dengan Reseptor Glutamat NMDA

Binding affinity merupakan energi yang dibutuhkan oleh suatu senyawa untuk dapat berikatan dengan protein target. Semakin kecil nilainya, maka ikatannya semakin kuat, yang berarti bahwa senyawa tersebut membutuhkan energi yang sedikit untuk berikatan dengan protein target.

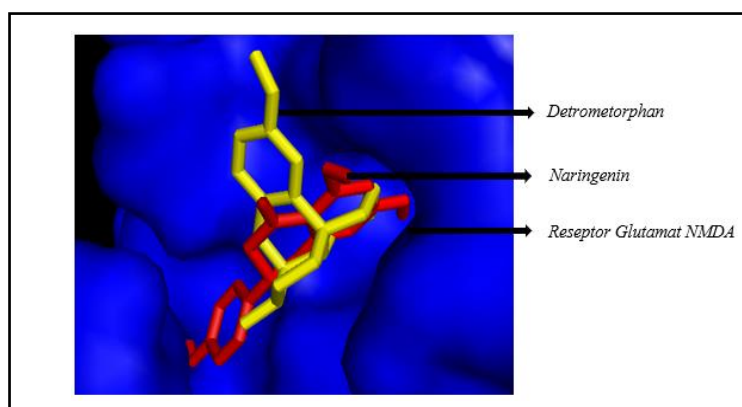
Tabel 5. Binding Afinitas Senyawa Prediksi dan Senyawa Kontrol dengan Reseptor Glutamat NMDA (*n-methyl-d-aspartate*)

Senyawa	Nilai energi ikatan (kkal/mol)	Residu Asam amino	Interaksi Ikatan	(Jarak Ikatan) Å ⁰
Dekstrometorfan	-6,4	<u>SER A : 81</u>	Hidrogen	3.38
		<u>ILE A : 85</u>	Hidrofobik	4.45 dan 5.29
		<u>ALA B : 888</u>	Hidrofobik	3.35 dan 4.32
		<u>MET A : 145</u>	Hidrofobik	5.27 dan 5.20
Naringenin	-6,7	SER B : 885	Hidrogen	3.23
		ARG B : 881	Hidrofobik	4.74
		<u>MET A : 145</u>	Hidrofobik	5.09
		<u>ILE A : 85</u>	Hidrofobik	4.53
		MET A : 72	Unfavorable	2.97
		<u>SER A : 81</u>	Unfavorable	2.59
		<u>ALA B : 888</u>	Hidrofobik	3.79

Berdasarkan hasil analisis docking pada Tabel 5, didapatkan nilai binding afinitas naringenin (-6,7 kkal/mol) lebih kecil daripada nilai binding affinity dekstrometorfan (-6,4 kkal/mol), yang berarti bahwa naringenin memiliki afinitas tinggi dan tidak membutuhkan energi yang besar untuk mengikat reseptor glutamat NMDA, namun tidak jauh berbeda dengan dekstrometorfan. Nilai binding affinas merupakan parameter kemampuan antara ikatan senyawa dengan protein target (Thafar *et al.*, 2019). Patil *et al.*, (2010) juga menegaskan, bahwa afinitas pengikatan yang lebih tinggi

menandakan, bahwa senyawa tersebut membutuhkan energi yang lebih sedikit untuk mengikat protein targetnya. Oleh karena itu, dapat diprediksi, bahwa senyawa naringenin memiliki potensi yang hampir sama dengan dekstrometorfan sebagai antitusif.

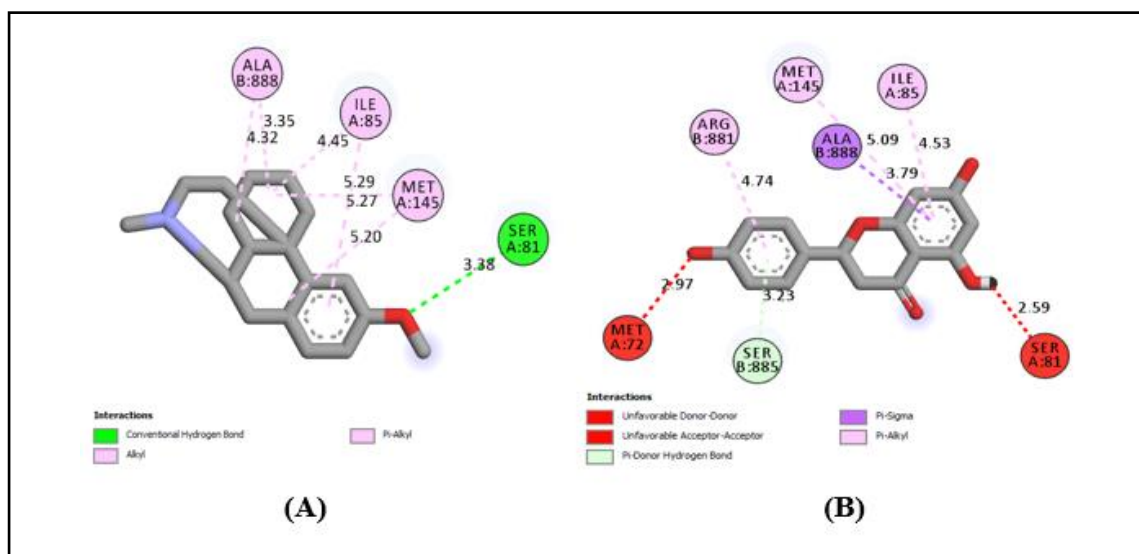
Hasil visualisasi menggunakan *software* PyMol menunjukkan, bahwa naringenin dan dekstrometorfan letaknya berdekatan satu sama lain dan berada pada sisi aktif yang sama ketika berikatan dengan reseptor glutamat NMDA (*n-methyl-d-aspartate*). Visualisasi hasil docking naringenin dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil Visualisasi Senyawa Naringenin dan Dekstrometorfan dengan Reseptor Glutamat NMDA (*n-methyl-d-aspartate*)

Untuk mengetahui apakah senyawa naringenin dan dekstrometorfan berada pada sisi pengikatan yang sama atau mengikat pada residu asam amino yang sama, maka dilakukan analisis interaksi antara kedua senyawa dengan reseptor glutamat NMDA menggunakan

Discovery Studio. Sisi pengikatan, interaksi, dan jarak ikatan senyawa dekstrometorfan dan senyawa naringenin dapat diamati pada Gambar 3.



Gambar 3. Residu Asam Amino Pada Reseptor Glutamat NMDA (*n-methyl-d-aspartate*) yang Diikat Oleh Senyawa Dekstrometorfan (A) dan Naringenin (B) Beserta Jenis Ikatannya

Pengamatan residu asam amino bertujuan untuk mengidentifikasi interaksi yang terjadi antara ligan dan reseptor. Interaksi akan semakin stabil dan baik antara senyawa dengan residu asam amino apabila memiliki ikatan hidrogen (Mardianingrum *et al.*, 2021). Ikatan hidrogen memiliki interaksi lemah jika panjang ikatan hidrogen $> 1.85 \text{ \AA}$ (Patil *et al.*, 2010). Semakin kecil jarak ikatan hidrogen antara ligan dengan residu asam amino pada reseptor maka kekuatan afinitas keduanya semakin besar (Fadhilah & Tjahjono, 2012).

Berdasarkan analisis visualisasi hasil docking pada Gambar 3 diketahui, bahwa naringenin berikatan dengan reseptor glutamat NMDA pada residu asam amino: 1) SER B:885 (3.23 \AA) dengan ikatan hidrogen, 2) ARG B:881 (4.74 \AA), MET A: 145 (5.09 \AA), ILE A: 85 (4.53 \AA), ALA B: 888 (3.79 \AA) dengan ikatan hidrofobik, 3) MET A:72 (2.97 \AA), SER A: 81 (2.59 \AA) dengan ikatan *unfavorabel* donor-donor. Dekstrometorfan berikatan dengan reseptor glutamat NMDA (*n-methyl-d-aspartate*) pada residu asam amino dengan jarak ikatan: 1) SER A: 81 (3.38 \AA) dengan ikatan hidrogen, 2) ILE A: 85 (4.45 \AA dan 5.29 \AA), ALA B: 888 (3.35 \AA dan 4.32 \AA), MET A:145 (5.27 \AA dan 5.20 \AA) dengan ikatan hidrofobik. Dekstrometorfan dan naringenin berikatan di residu asam amino yang sama dengan reseptor glutamat NMDA (*n-methyl-d-aspartate*) pada MET A: 145, ILE A: 85, ALA B: 888 dengan ikatan Hidrofobik, SER A: 81 dengan ikatan hidrogen pada dekstrometorfan

dan ikatan *unfavorabel* donor-donor pada naringenin dengan jarak ikatan hidrogen yang berbeda.

Jarak ikatan hidrogen dari senyawa Naringenin dan Dekstrometorfan $> 1.85 \text{ \AA}$, yang berarti interaksi ikatan hidrogennya lemah, namun adanya ikatan hidrogen yang terbentuk menunjukkan semakin kompleks strukturnya. Stabilitas ligan terhadap reseptor juga ditentukan oleh interaksi ikatan hidrofobik, adanya ikatan ini akan mengurangi interaksi antara residu nonpolar dengan air yang akan menyebabkan rusaknya struktur protein dan hilangnya aktivitas enzim (Lins & Brasseur, 1995). Adanya kesamaan interaksi hidrofobik pada residu asam amino yang sama antara kedua senyawa dan ikatan hidrogen yang terdapat pada kedua senyawa tersebut menunjukkan, bahwa interaksi antara ligan dan protein target cukup kuat. Dengan demikian dapat diprediksi, bahwa senyawa naringenin memiliki potensi yang tidak berbeda dengan dekstrometorfan sebagai antitusif.

Toksistas Senyawa Naringenin dan Dekstrometorfan

Toksistas suatu senyawa dapat diketahui melalui *Kroes TTC decision tree*. *Threshold of toxicological concern* (TTC) merupakan prinsip penetapan nilai ambang batas paparan suatu senyawa kimia terhadap manusia (Kroes *et al.*, 2004).

Berdasarkan hasil uji toksistas senyawa naringenin dan dekstrometorfan dengan *Toxtree*

melalui *kroes TTC decision tree* menunjukkan, bahwa kedua senyawa tersebut aman dikonsumsi dan tidak menunjukkan risiko yang membahayakan kesehatan (*substance would not*

be expected to be a safety concern). Hasil uji toksisitas dengan Toxtree dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Uji Toksisitas dengan Toxtree (*Kroes TTC decision tree*)

Senyawa	Hasil Uji Toksisitas
Naringenin	<i>substance would not be expected to be a safety concern</i>
Dekstrometorfan	<i>substance would not be expected to be a safety concern</i>

Simpulan dan Saran

Senyawa naringenin yang terkandung dalam tanaman umbi akar batu memiliki potensi sebagai antitusif yang hampir sama dengan senyawa dekstrometorfan sebagai antagonis reseptor glutamat NMDA karena memiliki nilai *binding affinity* dengan reseptor glutamat NMDA lebih kecil dari dekstrometorfan, yaitu -6,7 kkal/mol, sedangkan dekstrometorfan -6,4 kkal/mol. Naringenin dan dekstrometorfan dapat dikonsumsi peroral dan tidak menunjukkan risiko yang membahayakan bagi kesehatan karena dapat diabsorpsi, didistribusi, dimetabolisme, dan diekskresi dengan baik, sehingga dapat menjadi kandidat obat antitusif.

Penelitian terkait potensi senyawa naringenin dari tanaman umbi akar batu sebagai antitusif belum pernah dilakukan secara *in vitro* dan *in vivo*, oleh karena itu perlu adanya penelitian lebih lanjut di laboratorium (*wet lab*) untuk membuktikan temuan, bahwa senyawa naringenin yang terkandung pada umbi akar batu (*Gerrardanthus macrorrhizus* Harv.ex Benth. & Hook.f.) yang bertindak sebagai antagonis reseptor glutamat NMDA dapat berpotensi sebagai antitusif.

Daftar Pustaka

Akerman, S. C., Hammel, J. L., & Brunette, M. F. (2010). Dextromethorphan abuse and dependence in adolescents. *Journal of Dual Diagnosis* 6(3-4): 266-278.

Barry, S. J., Dane, A. D., Morice, A. H., & Walmsley, A. D. (2006). The automatic recognition and counting of cough. *BioMed Central* 2(1): 1-9.

Beers, M. H., Fletcher, A. J., Jones, T. V., & Porter, R. (2003). *The Merck Manual of Medical*

Information (2nd ed.). Pocket Books. New York.

Blasio, F. De., Virchow, J. C., Polverino, M., & Alessandro Zanasi. (2011). Cough management: a practical approach. *Cough* 7(7): 1-12.

Brown, G. R., McLaughlin, K., & Vaughn, K. (2018). Identifying and treating patients with synthetic psychoactive drug intoxication. *Journal of the American Academy of Physician Assistants* 31(8): 1-5.

Chung, K. F. & Pavord, I. D. (2008). Prevalence, pathogenesis, and causes of chronic cough. *The Lancet*, 371(9621): 1364-1374.

Chyka, P. A., Erdman, A. R., Manoguerra, A. S., Christianson, G., Booze, L. L., Nelson, L. S., Woolf, A. D., Cobaugh, D. J., Caravati, E. M., Scharman, E. J., & Troutman, W. G. (2007). Dextromethorphan poisoning: An evidence-based consensus guideline for out-of-hospital management. *Clinical Toxicology* 45(6): 662-677.

Dicpinigaitis., Morice, A. H., Birring, S. S., Mcgarvey, L., Smith, J. A., Canning, B. J., & Page, C. P. (2014). Antitussive Drugs — Past, Present, and Future. *Pharmacol Rev* 66(2): 468-512.

Ekins, S., Mestres, J., & Testa, B. (2007). In silico pharmacology for drug discovery: Methods for virtual ligand screening and profiling. *British Journal of Pharmacology* 152(1): 9-20.

Fadhilah, Q. & Tjahjono, D. H. (2012). Hubungan Kuantitatif Struktur dan Aktivitas Senyawa Turunan 3-Haloasilaminobenzoilurea sebagai Inhibitor Pembentukan Mikrotubulus. *Acta Pharmaceutica Indonesia* 37(3): 76-82.

Fuller, R. W. & Jackson, D. M. (1990). Physiology and treatment of cough. *Thorax* 45(6): 425-430.

- Gershman, J. A. & Fass, A. D. (2013). Dextromethorphan abuse: A literature review. *Journal of Pharmacy Technology* 29(2): 66–71.
- Guan, M., Shi, R., Zheng, Y., Zeng, X., Fan, W., Wang, Y., & Su, W. (2020). Characterization, in vitro and in vivo evaluation of naringenin-hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion for pulmonary delivery. *Molecules* 25(3): 1–14.
- Hansen, K. B., Yi, F., Perszyk, R. E., Furukawa, H., Wollmuth, L. P., Gibb, A. J., & Traynelis, S. F. (2018). Structure, function, and allosteric modulation of NMDA receptors. *Journal of General Physiology* 150(8): 1081–1105.
- Hargreaves, R. J., Rigby, M., Smith, D., Hill, R. G., & Iversen, L. L. (1993). Competitive as well as uncompetitive N-methyl-D-aspartate receptor antagonists affect cortical neuronal morphology and cerebral glucose metabolism. *Neurochemical Research* 18(12): 1263–1269.
- Kim, J. H., Marton, J., Ametamey, S. M., & Cumming, P. (2020). A review of molecular imaging of glutamate receptors. *Molecules* 25(20): 4749.
- Klima, S., Brüll, M., Spreng, A. S., Suci, I., Falt, T., Schwamborn, J. C., Waldmann, T., Karreman, C., & Leist, M. (2021). A human stem cell-derived test system for agents modifying neuronal N-methyl-d-aspartate-type glutamate receptor Ca^{2+} -signalling. *Archives of Toxicology* 95(5): 1703–1722.
- Kroes, R., Renwick, A. G., Cheeseman, M., Kleiner, J., & Mangelsdorf, I. (2004). Structure-based thresholds of toxicological concern (TTC): guidance for application to substances present at low levels in the diet. *Food Chem Toxicol* 42(1): 65–83.
- Lin, B., Qin, L., P. Bo., Wang, Y. gang., Peng, W., Wu, Z., Su, W. wei, & Ji, H. (2008). The expectorant activity of naringenin. *Pulmonary Pharmacology and Therapeutics* 21(2): 259–263.
- Lins, L. & Brasseur, R. (1995). The hydrophobic effect in protein folding. *The FASEB Journal* 9(7): 535–540.
- Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (2001). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews* 46(1-3): 4–17.
- Malesker, M. A., Callahan-Lyon, P., Ireland, B., Irwin, R. S., Adams, T. M., Altman, K. W., Azoulay, E., Barker, A. F., Birring, S. S., Blackhall, F., Bolser, D. C., Boulet, L. P., Braman, S. S., Brightling, C., Callahan-Lyon, P., Chang, A. B., Coté, A., Cowley, T., Davenport, P., & Weir, K. (2017). Pharmacologic and Nonpharmacologic Treatment for Acute Cough Associated With the Common Cold: CHEST Expert Panel Report. *Chest* 152(5): 1021–1037.
- Mardianingrum, R., Bachtar, K. R., Susanti, S., Aas Nuraisah, A. N., & Ruswanto, R. (2021). Studi In Silico Senyawa 1,4-Naphthalenedione-2-Ethyl-3-Hydroxy sebagai Antiinflamasi dan Antikanker Payudara. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia* 17(1): 83.
- Mukae, H., Kaneko, T., Obase, Y., Shinkai, M., Katsunuma, T., Takeyama, K., Terada, J., Niimi, A., Matsuse, H., Yatera, K., Yamamoto, Y., Azuma, A., Arakawa, H., Iwanaga, T., Ogawa, H., Kurahashi, K., Gon, Y., Sakamoto, H., Shibata, Y., & Tamaoki, J. (2021). The Japanese respiratory society guidelines for the management of cough and sputum (digest edition). *Respiratory Investigation* 59(3): 270–290.
- Mutolo, D., Bongianni, F., Cinelli, E., & Pantaleo, T. (2010). Depression of cough reflex by microinjections of antitussive agents into caudal ventral respiratory group of the rabbit. *Journal of Applied Physiology* 109(4): 1002–1010.
- Mutschler, J., Koopmann, A., Grosshans, M., Hermann, D., Mann, K., & Kiefer, F. (2010). Dextromethorphan: Entzugs- und abhängigkeitsyndrom. *Deutsches Arzteblatt* 107(30): 537–540.
- Papadia, S. & Hardingham, G. E. (2007). The dichotomy of NMDA receptor signalling. *Neuroscientist* 13(6): 572–579.
- Patil, R., Das, S., Stanley, A., Yadav, L., & Sudhakar, A. (2010). Optimized hydrophobic interactions and hydrogen bonding at the target-ligand interface leads the pathways of Drug-Designing. *PLoS ONE* 5(8): 1-10.
- Pires, D. E. V., Blundell, T. L., & Ascher, D. B. (2015). pkCSM: Predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. *Journal of Medicinal Chemistry* 58(9): 4066–4072.

- Reynolds, S. M., Mackenzie, A. J., Spina, D., & Page, C. P. (2004). The pharmacology of cough. *Trends in Pharmacological Sciences* 25(11): 569–576.
- Riskesdas. (2018). Hasil Riset Kesehatan Dasar. *Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian RI*. <https://dinkes.kalbarprov.go.id/wp-content/uploads/2019/03/Laporan-Riskesdas-2018-Nasional.pdf>.
- Roncagliani, A., Toropov, A. A., Toropova, A. P., & Benfenati, E. (2013). In silico methods to predict drug toxicity. *Current Opinion in Pharmacology* 13(5): 802–806.
- Ru, J., Li, P., Wang, J., Zhou, W., Li, B., Huang, C., Li, P., Guo, Z., Tao, W., Yang, Y., Xu, X., Li, Y., Wang, Y., & Yang, L. (2014). TCMSP: A database of systems pharmacology for drug discovery from herbal medicines. *Journal of Cheminformatics* 6(1): 1–6.
- Ruswanto., Mardianingrum, R., & Yanuar, A. (2022). Computational Studies of Thiourea Derivatives as Anticancer Candidates through Inhibition of Sirtuin-1 (SIRT1). *Journal of Scientific and Applied Chemistry* 25(3): 87–96.
- Saputra, R. A., Alit, I. B. P., & Yulianti, K. (2021). Perbedaan rerata panjang larva lalat pada bangkai tikus wistar yang terpapar dosis letal dekstrometorfan dengan yang tidak terpapar. *Jurnal Medika Udayana* 10(2): 2–3.
- Schwartz, R. H. (2005). Adolescent abuse of dextromethorphan. *Clinical Pediatrics* 44(7): 565–568.
- Sharma, S., Muhammad, F. H., & Mohamed, S. A. (2022). *Cough*. StatPearls Publishing, Treasure Island.
- Simasek, M. & Blandino, D. A. (2007). Treatment of Common Colds. *American Family Physician* 75(4): 515-520.
- Siu, A. & Drachtman, R. (2007). Dextromethorphan: A review of N-methyl-D-aspartate receptor antagonist in the management of pain. *CNS Drug Reviews* 13(1): 96–106.
- Smith, D. A., Beaumont, K., Maurer, T. S., & Di, L. (2019). Clearance in Drug Design. *Journal of Medicinal Chemistry* 62(5): 2245–2255.
- Song, W. J., Hui, C. K. M., Hull, J. H., Birring, S. S., McGarvey, L., Mazzone, S. B., Chung, K. F., & Cough. (2021). Confronting COVID-19-associated cough and the post-COVID syndrome: role of viral neurotropism, neuroinflammation, and neuroimmune responses Woo-Jung. *Lancet Respiratory Med* 9(5): 533-544.
- Sykes, D. L., & Morice, A. H. (2021). The Cough Reflex: The Janus of Respiratory Medicine. *Frontiers in Physiology* 12(6): 1–8.
- Thafar, M., Raies, A. B., Albaradei, S., Essack, M., & Bajic, V. B. (2019). Comparison Study of Computational Prediction Tools for Drug-Target Binding Affinities. *Frontiers in Chemistry* 7(11): 1–19.
- Tutunchi, H., Naeini, F., Ostadrahimi, A., & Hosseinzadeh-Attar, M. J. (2020). Naringenin, a flavanone with antiviral and anti-inflammatory effects: A promising treatment strategy against COVID-19. *Phytotherapy Research* 34(12): 3137–3147.
- Weni, M., Safithri, M., & Seno, D. S. H. (2020). Molecular Docking of Active Compounds Piper crocatum on the A-Glucosidase Enzyme as Antidiabetic. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology* 7(2): 64.
- Wu, Y. C., Chen, C. S., & Chan, Y. J. (2020). The outbreak of COVID-19: An overview. *Journal of the Chinese Medical Association* 83(3): 217–220.