

Docking Molekuler Senyawa Bioaktif *Andrographis paniculata* sebagai Kandidat Antimalaria

Molecular Docking of *Andrographis paniculata* Bioactive Compounds as Antimalarial Candidates

Rizky Resvita R. Bahi^{1*}, Moh. Rivaldi Mappa¹, Alia Afrilia Gobel¹, Tarisya Pobela¹

¹Faculty of Health, Institut Kesehatan dan Teknologi Graha Medika, Kotamobagu, Indonesia

Article Info	ABSTRAK
Article history: Received 10 03, 2023 Revised 11 19, 2023 Accepted 11 25, 2023	<p>Upaya dalam membasmi malaria sangat terhambat karena berkembangnya resistensi <i>P. falciparum</i> pada obat antimalaria. Oleh karena itu, perlu dilakukan usaha untuk menemukan dan mengembangkan obat antimalaria baru yang efektif untuk pengobatan malaria. Salah satu tanaman yang dilaporkan memiliki aktivitas sebagai antimalaria adalah <i>Andrographis paniculata</i>. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan <i>docking</i> molekuler dari kandungan senyawa aktif sambiloto untuk mendapatkan senyawa potensial yang memiliki aktivitas sebagai antimalaria. Pada penelitian ini sebanyak 18 senyawa bioaktif <i>A. paniculata</i> di-<i>docking</i>-kan pada tiga target yang berperan dalam <i>pathway</i> penyakit malaria yakni <i>P. falciparum Plasmeprin II</i> (PDB: 1LEE), PfENR (PDB: 1NHG), dan PfDHFR-TS (PDB: 7F3Z) menggunakan Autodock 4.0. Senyawa bioaktif dengan aktivitas paling baik berdasarkan hasil <i>docking</i> kemudian dianalisis parameter farmakokinetik dan <i>drug-likeness</i> menggunakan <i>webtool</i> SwissADME. Hasil penelitian menunjukkan senyawa bioaktif dengan aktivitas tertinggi terhadap protein target yang terlibat dalam penyakit malaria adalah <i>14-acetylandrographolide</i>, <i>andrographic acid</i>, <i>andrographiside</i>, <i>bisandrographolide C</i>, <i>daucosterol</i>, <i>neoandrographolide</i> dan <i>ninandrographolide</i>. Senyawa-senyawa ini berinteraksi dengan asam amino penting yang terdapat pada protein target dengan energi ikatan terkecil. Kandungan senyawa dalam <i>A. paniculata</i> berpotensi menjadi kandidat obat antimalaria dan memiliki peluang menjadi obat oral berdasarkan filter Lipinski, kecuali <i>andrographiside</i>.</p>
Kata kunci <i>Docking molekuler Andrographis paniculata</i> Antimalaria	
Keywords: Molecular docking <i>Andrographis paniculata</i> Antimalaria	ABSTRACT (10 PT) Efforts to eradicate malaria have been severely hampered by the growing resistance of <i>P. falciparum</i> to currently available antimalarial drugs. Therefore, efforts should be made to find and develop new effective antimalarial drugs for the treatment of malaria. One of the plants reported to have antimalarial activity is <i>Andrographis paniculata</i> . This study aims to carry out molecular docking of the bioactive compounds contained in <i>A. paniculata</i> to obtain potential compounds that have antimalarial activity. In this study, 18 bioactive compounds of <i>A. paniculata</i> were docked to three targets involved in the malaria pathway, namely <i>P. falciparum Plasmeprin II</i> (PDB: 1LEE), PfENR (PDB: 1NHG), and PfDHFR-TS (PDB: 7F3Z) using Autodock 4.0. Based on the docking results, the bioactive compounds with the best activity were analyzed using the SwissADME web tool for their pharmacokinetic parameters and drug-likeness. The results showed that the bioactive compound with the best activity against the molecular targets involved in malaria was <i>14-acetylandrographolide</i> , <i>andrographic acid</i> , <i>andrographiside</i> , <i>bisandrographolide C</i> , <i>daucosterol</i> , <i>neoandrographolide</i> dan <i>ninandrographolide</i> . The bioactive compounds contained in <i>A. paniculata</i> have the potential to become candidates for antimalarial drugs and have the opportunity to become oral drugs based on Lipinski's filter except for <i>andrographiside</i> .

Corresponding Author:

Rizky Resvita R. Bahi

Faculty of Health, Institut Kesehatan dan Teknologi Graha Medika

Jl. Siswa, Mogolaing, Kec. Kotamobagu Barat, Kota Kotamobagu, Sulawesi Utara 95716

email: resvitabahi@gmail.com

This is an open-access article under the [CC BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.



1. PENDAHULUAN

Jumlah kasus penyakit malaria semakin meningkat setiap tahunnya. WHO melaporkan bahwa pada tahun 2021, diperkirakan ada 247 juta kasus malaria di 84 negara endemik malaria. Jumlah ini meningkat dari 245 juta pada tahun 2020. Berdasarkan data kementerian kesehatan, angka kejadian malaria di Indonesia pada tahun 2022 adalah 415.140. Jumlah ini melonjak 36,29% dibandingkan tahun sebelumnya yakni 304.607 kasus. Pada tahun 2020, kematian akibat malaria meningkat sebesar 10% dibandingkan tahun 2019, menjadi sekitar 625.000. Perkiraan kematian sedikit menurun pada tahun 2021 menjadi 619.000. Antara tahun 2019 dan 2021, terdapat 63.000 kematian yang disebabkan oleh gangguan pada layanan malaria esensial selama periode Pandemi COVID-19 [1].

Beberapa penelitian melaporkan bahwa meningkatnya kasus malaria disebabkan oleh resistensi obat klorokuin, sehingga WHO merekomendasikan penggunaan terapi kombinasi artemisin (ACT) untuk pengobatan malaria [2]. ACT sangat efektif dalam mengobati malaria, namun di Asia Tenggara sudah mulai banyak yang melaporkan kejadian resistensi dari obat ini [3]. Sensitivitas yang menurun akibat pengobatan jangka panjang dan tidak adekuat, menyebabkan mutasi parasit. Upaya dalam membasmi malaria sangat terhambat karena berkembangnya resistensi pada obat antimalaria [4].

Sambiloto (*Andrographis paniculata*) merupakan tanaman yang memiliki berbagai macam khasiat, salah satunya sebagai antimalaria. Ekstrak *A. paniculata* mampu menghambat *P. falciparum* strain G-2300 yang resisten klorokuin dengan nilai IC₅₀ sebesar 44,541 µg/mL [5]. *Andrografolid* yang merupakan kandungan utama *A. paniculata* berdasarkan uji *in vitro* mampu menghambat *P. falciparum* dengan nilai IC₅₀ 0,220 µg/mL, hasil ini didukung oleh penelitian lain yang melaporkan bahwa andrografolid menghambat *P. falciparum* (IC₅₀ 9,1 µM) [6,7]. Hasil pengujian aktivitas antimalaria kandungan sambiloto yakni *1,2-dihydroxy-6,8-dimethoxy-xanthone* secara *in vivo* pada tikus albino swiss menunjukkan adanya penurunan parasitemia sebesar 62% setelah diberikan pada tikus dengan dosis 30 mg/kg, sedangkan secara *in vitro* senyawa ini menunjukkan aktivitas antiplasmodial yang substansial dengan IC₅₀ sebesar 4 µg/mL [8].

Target pada penelitian ini adalah *P. falciparum* *Plasmepsin II*, *P. falciparum* *Enoyl-Acyl-CarrierProtein Reductase* (PfENR) dan *P. falciparum* *dihydrofolate reductase-thymidylate synthase* (PfDHFR-TS) karena ketiga target tersebut terlibat pada tahapan penting dalam patofisiologi penyakit malaria. Plasmepsin II merupakan enzim utama pada daur hidup malaria, yakni protease aspartik yang terlibat dalam degradasi hemoglobin. Parasit menggunakan hemoglobin dari inangnya untuk memperoleh asam amino yang dibutuhkan pada proses pertumbuhan dan pematangannya [9]. Selain itu, parasit malaria yakni *P. falciparum* mensintesis asam lemak menggunakan jalur tipe II yang tidak ada pada manusia. Langkah terakhir dalam pemanjangan asam lemak yang dikatalisis oleh PfENR, target obat antibakteri yang tervalidasi [10]. Di sisi lain, PfDHFR-TS juga merupakan target penting dari obat antimalaria antifolat, karena enzim ini terlibat dalam metabolisme folat. Folat berfungsi dalam transfer karbon tunggal dalam sintesis DNA & RNA dan metabolisme asam amino [11], [12].

Berdasarkan uraian diatas dapat diketahui bahwa sambiloto memiliki efektivitas sebagai antimalaria, akan tetapi senyawa yang berperan sebagai antimalaria dan bagaimana mekanisme kerjanya dalam menghambat *P. falciparum* tidak diketahui dengan jelas sehingga perlu dilakukan suatu penelitian untuk mengetahui hal tersebut. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan melakukan *molecular docking* atau penambatan



molekul dari kandungan senyawa aktif sambiloto untuk mendapatkan senyawa potensial yang memiliki aktivitas antimalaria.

2. METODE

Alat dan Bahan

Software yang digunakan adalah VegaZZ v.3.2.0.9, Autodock tools (versi 1.5.6), PyMOL v.2.3.3, dan Discovery Studio Visualizer. Website yang digunakan adalah KNApSack (www.knapsackfamily.com), Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>), Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org>) dan SwisADME (www.swissadme.ch). Struktur 3D protein target yang diunduh dari Protein Data Bank yakni *P. falciparum* *Plasmepsin II* (PDB: 1LEE), PfENR (PDB: 1NHG), dan PfDHFR-TS (PDB: 7F3Z). Serta struktur 3D ligan uji yang terdiri dari 18 senyawa bioaktif.

Cara Kerja

Preparasi Target dan Ligan

Preparasi protein target dilakukan menggunakan aplikasi Autodock tools 4.0, yang meliputi penghilangan ligan alami dan bagian air, serta penambahan atom hidrogen dan muatan *Gasteiger*. Sementara itu, persiapan ligan uji menggunakan aplikasi VegaZZ dibuat dengan memasukkan SMILES senyawa bioaktif sambiloto, yang selanjutnya SMILES tersebut dikonversi menjadi struktur 3D dan ditambahkan *force field autodock* dan muatan *Gasteiger*.

Validasi Metode Docking

Sebelum melakukan *docking* molekular, metode *docking* yang akan digunakan harus divalidasi terlebih dahulu dengan cara *redocking* ligan asli terhadap targetnya menggunakan Autodock tools 4.0 untuk menentukan validitas dari metode *docking* yang digunakan. Pada proses validasi metode ini, parameter yang diamati adalah nilai RMSD. Apabila nilai $RMSD \leq 2,5 \text{ \AA}$ maka metode *docking* yang digunakan valid, sebaliknya suatu metode *docking* dikatakan tidak valid apabila nilai $RMSD > 2,5 \text{ \AA}$ [13].

Docking Molekuler

Penambatan molekul antara protein target dan ligan uji dilakukan menggunakan aplikasi Autodock tools. Hasil yang diperoleh dari penambatan molekul ini yaitu energi ikatan dan pola interaksi ligan-protein target. Energi ikatan akan langsung diketahui setelah hasil *docking* diperoleh, sedangkan pola interaksi ligan-protein dapat diketahui dengan cara melakukan visualisasi hasil *docking* menggunakan Pymol dan Discovery Studio Visualizer. Semakin kecil nilai energi ikatan maka dapat diprediksi bahwa aktivitas ligan terhadap protein target semakin besar [13].

Prediksi Parameter Farmakokinetik

Senyawa bioaktif dengan efektivitas paling baik berdasarkan hasil *docking* kemudian dianalisis *drug-likeness* dan parameter farmakokinetik menggunakan *webtool* SwissADME, dengan cara memasukkan SMILES dari senyawa bioaktif yang diperoleh dari Pubchem. *Drug-likeness* adalah parameter yang dapat memprediksi peluang suatu senyawa menjadi obat oral. Sedangkan absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi (ADME) merupakan parameter farmakokinetik yang akan diamati [14].

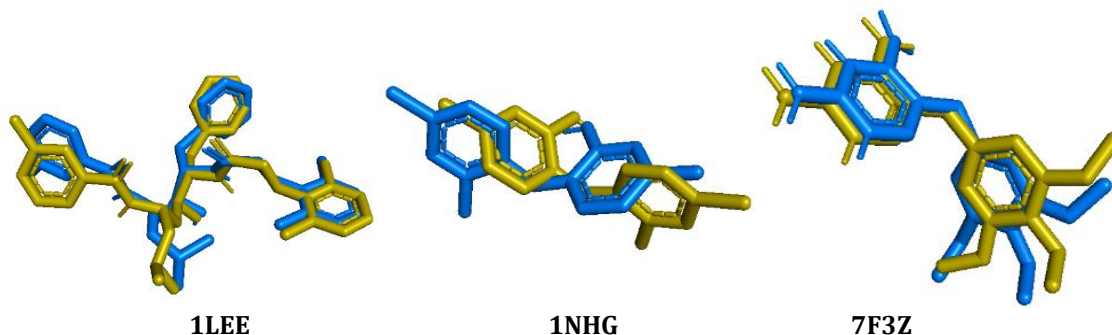
3. HASIL

Validasi Metode

Pada gambar 1 dapat diamati hasil validasi metode *docking*. Konformasi ligan alami yang *didocking* kembali berwarna biru mirip dengan konformasi ligan alami



kristalografi berwarna olive. Hasil perhitungan RMSD makromolekul 1LEE, 1NHG dan 7F3Z menggunakan Pymol adalah 1,940 Å, 1,998 Å, dan 2,478 Å.



Gambar 1. Overlay hasil validasi metode docking

Docking Molekuler

Pada tabel 1 dapat diamati hasil docking molekuler 18 ligan uji dan ligan alami terhadap protein target 1LEE, 1NHG dan 7F3Z. Pada protein target 1LEE dan 1NHG, energi ikatan *bisandrographolide C* lebih tinggi dibandingkan ligan uji yang lain yakni -9,58 kkal/mol dan -11,63 kkal/mol. Sedangkan pada protein target 7F3Z, ligan uji terbaik adalah *14-acetylandrographolide* dengan nilai energi ikatan -11,04 kkal/mol.

Tabel 1. Hasil docking molekuler

No.	Nama Senyawa	$\Delta G_{binding}$ (kkal/mol)		
		1LEE	1NHG	7F3Z
1.	Ligan alami	-10,38	-6,58	-7,17
2.	14-Acetylandrographolide	-8,18	-9,19	-11,04
3.	14-Deoxy-11,12-didehydroandrographolide	-7,33	-7,88	-9,03
4.	14-Deoxyandrographolide	-7,28	-8,59	-9,24
5.	5-Hydroxy-3,7,8,2'-tetramethoxyflavone	-5,91	-6,78	-7,41
6.	5-Hydroxy-7,8-dimethoxyflavanone	-6,26	-7,61	-8,30
7.	Andrografolid	-7,92	-8,40	-9,05
8.	Andrograpanin	-7,74	-9,01	-9,56
9.	Andrographic acid	-5,67	-8,01	-10,59
10.	Andrographiside	-9,21	-8,43	-10,11
11.	Andropanolide	-7,92	-8,55	-9,09
12.	Asam kafeat	-4,47	-5,87	-5,82
13.	Bisandrographolide C	-9,58	-11,63	+1,61
14.	Daucosterol	-8,50	-9,18	+3,16
15.	Isoandrographolide	-7,94	-8,31	-9,65
16.	Neoandrographolide	-8,13	-8,74	-10,20
17.	Ninandrographolide	-8,57	-7,73	-9,14
18.	Quercetin	-6,47	-6,21	-7,28
19.	Wogonin 5-glucoside	-7,05	-7,29	-7,82

Tabel 2 menunjukkan perbandingan energi ikatan dan asam amino pada interaksi ligan alami dan tiga ligan uji dengan aktivitas terbaik terhadap protein target 1LEE yaitu *bisandrographolide C*, *andrographiside* dan *ninandrographolide*.

Tabel 2. Visualisasi hasil docking molekuler protein target 1LEE

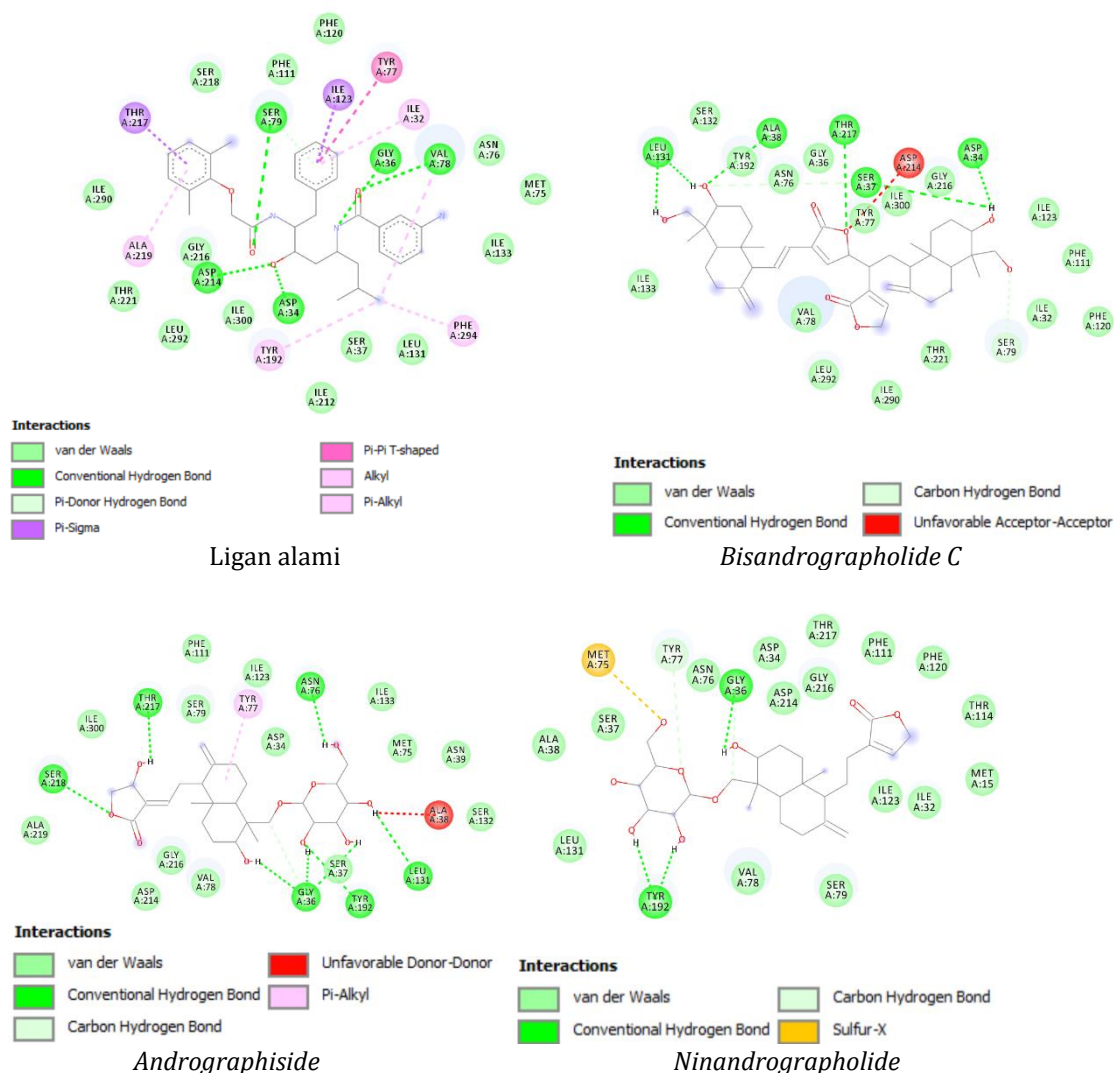
Senyawa	$\Delta G_{binding}$ (kkal/mol)	Residu Asam Amino yang Berperan dalam Interaksi	
		Ikatan Hidrogen	Selain Ikatan Hidrogen
Ligan alami	-10,38	Ser79, Gly36, Val78, Asp34, Asp214	Ser218, Phe111, Phe120, Ile123, Tyr77, Ile32, Asn76, Met75, Ile133, Phe294, Leu131, Ser37, Ile212, Tyr192, Ile300, Leu292, Thr221, Gly216, Ala219, Ile290 Thr217



Bisandrographoli de C	-9,58	Leu131, Ala38, Thr217, Ser37, Asp34, Ser79	Ser132, Tyr192, Asn76, Gly36, Tyr77, Ile300, Asp214, Gly216, Ile123, Phe111, Phe120, Ile32, Thr221, Ile290, Leu292, Val78, Ile133
Andrographiside	-9,21	Ser218, Thr217, Asn76, Leu131, Tyr192, Gly36	Ile300, Phe111, Ser79, Ile123, Asp34, Ile133, Met75, Asn39, Ser132, Ala38, Ser37, Val78, Gly216, Asp214, Ala219
Ninandrographol ide	-8,57	Gly36, Tyr192	Ala38, Ser37, Met75, Tyr77, Asn76, Asp34, Asp214, Gly216, Thr217, Phe111, Phe120, Thr114, Met15, Ile32, Ile123, Ser79, Val78, Leu131

Ket: Asam amino yang diberi tanda tebal mirip dengan ligan alami

Gambar 2 menunjukkan diagram perbandingan interaksi ligan alami dan ligan uji pada protein target 1LEE. Beberapa asam amino yang berinteraksi dengan ligan uji mirip dengan yang ada pada ligan alami, baik melalui ikatan yang sama maupun berbeda.



Gambar 2. Diagram perbandingan interaksi ligan uji dan ligan alami 1LEE

Tabel 3 menunjukkan perbandingan energi ikatan dan asam amino pada interaksi ligan alami dan tiga ligan uji dengan aktivitas terbaik terhadap protein target 1NHG yaitu *bisandrographolide C*, *14-acetylandrographolide* dan *daucosterol*, dimana energi ikatan dari ketiga senyawa ini lebih kecil daripada ligan alami.

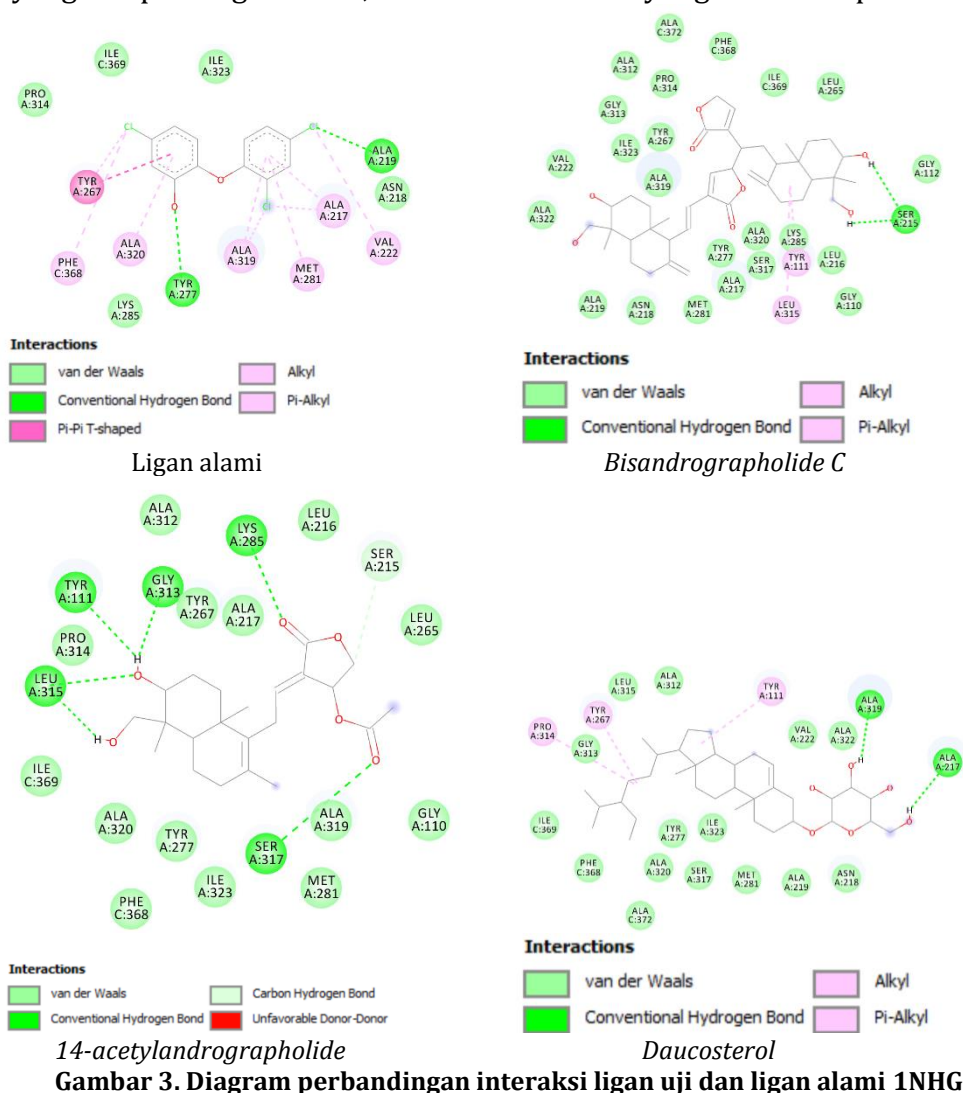


Tabel 3. Visualisasi hasil *docking* molekuler protein target 1NHG

Senyawa	$\Delta G_{binding}$ (kcal/mol)	Residu Asam Amino yang Berperan dalam Interaksi	
		Ikatan Hidrogen	Selain Ikatan Hidrogen
Ligan alami	-6,58	Ala219, Tyr277	Pro314, Ile369, Ile323, Asn218, Val222, Ala217, Met281, Ala319, Lys285, Ala320, Phe368, Tyr267
Bisandrographolide C	-11,63	Ser215	Ala322, Val222, Ile323, Ala319, Tyr267, Gly313, Pro314, Ala312, Ala372, Phe368, Ile369, Leu265, Gly112, Gly110, Leu216, Lys285, Tyr111, Leu315, Ala320, Ser317, Tyr277, Ala217, Met281, Asn218, Ala219
14-acetylandrographolide	-9,19	Leu315, Tyr111, Gly313, Lys285, Ser317	Pro314, Tyr267, Ala217, Ala312, Leu216, Ser215, Leu265, Gly110, Ala319, Met281, Ile323, Tyr277, Phe368, Ala320, Ile369
Daucosterol	-9,18	Ala319, Ala217	Pro314, Gly313, Tyr267, Leu315, Ala312, Tyr111, Val222, Ala322, Asn218, Ala219, Met281, Ile323, Ser317, Tyr277, Ala320, Ala372, Phe368, Ile369

Ket: Asam amino yang diberi tanda tebal mirip dengan ligan alami

Gambar 3 menunjukkan diagram perbandingan interaksi ligan alami dan ligan uji pada protein target 1NHG. Beberapa asam amino yang berinteraksi dengan ligan uji mirip dengan yang ada pada ligan alami, baik melalui ikatan yang sama maupun berbeda.



Gambar 3. Diagram perbandingan interaksi ligan uji dan ligan alami 1NHG



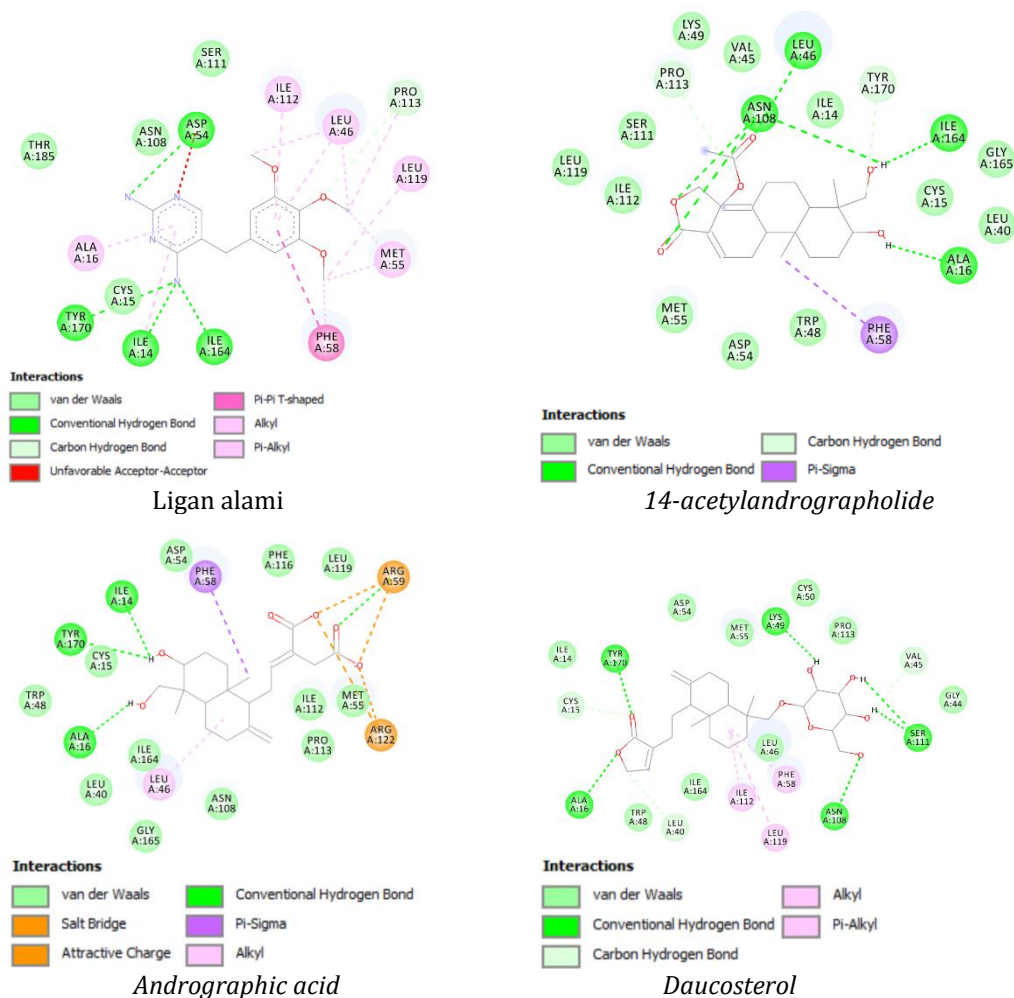
Tabel 4 menunjukkan perbandingan energi ikatan dan asam amino pada interaksi ligan alami dan tiga ligan uji dengan aktivitas terbaik terhadap protein target 7F3Z yaitu *14-acetylandrographolide*, *andrographic acid* dan *neoandrographolide*, dimana energi ikatan dari ketiga senyawa ini lebih kecil daripada ligan alami.

Tabel 4. Visualisasi hasil *docking* molekuler protein target 7F3Z

Senyawa	$\Delta G_{binding}$ (kkal/mol)	Residu Asam Amino yang Berperan dalam Interaksi	
		Ikatan Hidrogen	Selain Ikatan Hidrogen
Ligan alami	-7,17	Asp54, Ile164, Ile14, Tyr170	Cys15, Ala16, Thr185, Asn108, Ser111, Ile112, Leu46, Pro113, Leu119, Met55, Phe58
14-acetylandrographolide	-11,04	Asn108, Leu46, Ile164 , Ala16	Ile112, Leu119, Ser111, Pro113 , Lys49, Val45, Ile14, Tyr170, Gly165, Cys15 , Leu40, Phe58 , Trp48, Asp54, Met55
Andrographic acid	-10,59	Tyr170, Ile14 , Ala16	Asp54, Phe58 , Phe116, Leu119 , Arg59, Arg122, Met55, Ile112, Pro113, Asn108, Leu46 , Gly165, Ile164, Leu40, Trp48, Cys15
Neoandrographolide	-10,20	Tyr170 , Lys49, Ser111, Asn108, Ala16	Cys15 , Ile14, Asp54, Met55 , Cys50, Pro113 , Val45, Gly44, Leu46, Phe58, Leu119, Ile112 , Ile164, Leu40, Trp48

Ket: Asam amino yang diberi tanda tebal mirip dengan ligan alami

Gambar 4 menunjukkan diagram perbandingan interaksi ligan alami dan ligan uji pada protein target 7F3Z. Beberapa asam amino yang berinteraksi dengan ligan uji mirip dengan yang ada pada ligan alami, baik melalui ikatan yang sama maupun berbeda.



Gambar 4. Diagram perbandingan interaksi ligan uji dan ligan alami 7F3Z



Prediksi Parameter Farmakokinetik

Hasil prediksi *drug-likeness* pada tabel 5 menunjukkan bahwa *14-acetylandrographolide*, *andrographic acid*, *bisandrographolide C*, *daucosterol*, *neoandrographolide* dan *ninandrographolide* berpeluang untuk menjadi obat oral. Sedangkan *andrographiside acid* tidak memiliki peluang, karena melanggar 2 aturan *Lipinski*.

Tabel 5. Hasil prediksi *drug-likeness*

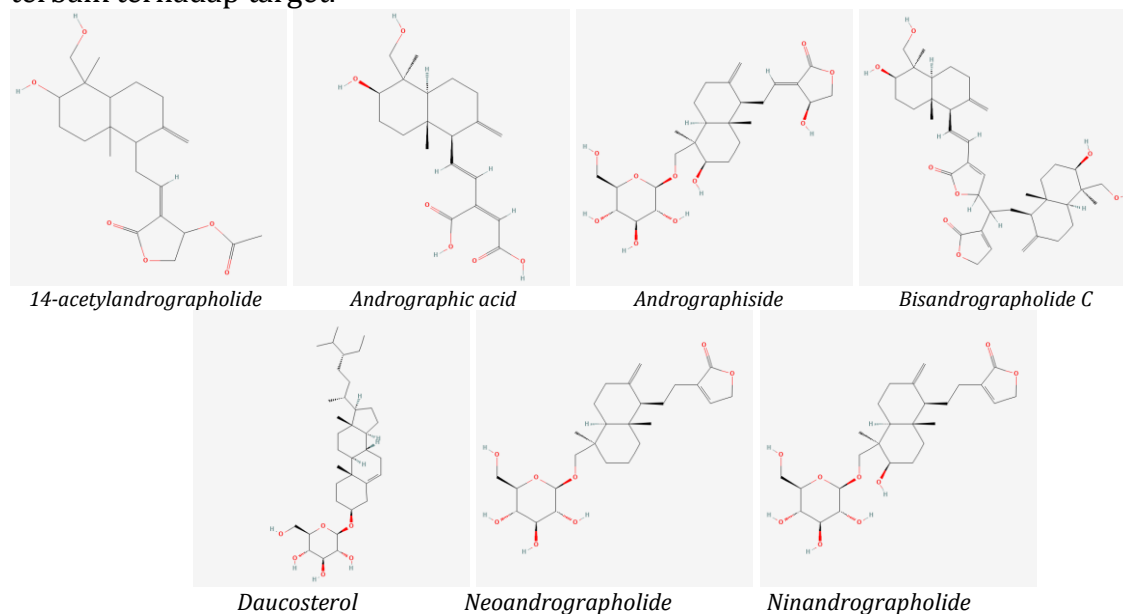
Senyawa	BM ≤ 500	MLOGP ≤ 4,15	N or O ≤ 10	NH or OH ≤ 5	Ket
14-acetylandrographolide	√	√	√	√	Yes
Andrographic acid	√	√	√	√	Yes
Andrographiside	x	√	√	x	No
Bisandrographolide C	x	√	√	√	Yes
Daucosterol	x	√	√	√	Yes
Neoandrographolide	√	√	√	√	Yes
Ninandrographolide	√	√	√	√	Yes

Senyawa yang diprediksi farmakokinetiknya adalah tiga senyawa terbaik yang berinteraksi dengan protein-protein target yaitu *14-acetylandrographolide*, *andrographic acid*, *andrographiside*, *bisandrographolide C*, *daucosterol*, *neoandrographolide* dan *ninandrographolide*. Hasil analisis parameter farmakokinetik dapat diamati pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil analisis parameter farmakokinetik

Nama Senyawa	GI Absorpsi	Permeasi BBB	Substrat P-gp	Substrat				
				CY P1 A2	CYP 2C1 9	CY P2 C9	CY P2 D6	CY P3 A4
14-acetylandrographolide	Tinggi	Tidak	Ya	-	-	-	-	√
Andrographic acid	Tinggi	Tidak	Ya	-	-	-	-	-
Andrographiside	Rendah	Tidak	Ya	-	-	-	-	-
Bisandrographolide C	Rendah	Tidak	Ya	-	-	-	-	-
Daucosterol	Rendah	Tidak	Tidak	-	-	-	-	-
Neoandrographolide	Tinggi	Tidak	Ya	-	-	-	-	√
Ninandrographolide	Rendah	Tidak	Ya	-	-	-	-	-

Pada gambar 5 ditampilkan struktur kimia dari 7 senyawa aktif dengan aktivitas terbaik terhadap target.



Gambar 5. Struktur kimia senyawa aktif dengan aktivitas terbaik



4. PEMBAHASAN

Target pada penelitian ini adalah *P. falciparum Plasmeprin II*, PfENR, dan PfDHFR-TS. Sedangkan ligan uji yang digunakan terdapat pada tabel 1.

Validasi metode *docking*

Tahap awal yang dilakukan sebelum proses *docking* molekuler adalah validasi metode *docking* dengan cara membandingkan konformasi ligan alami kristalografi dan ligan alami yang *didocking* kembali pada protein target. Pada validasi metode *docking*, parameter yang diamati adalah *Root Mean Square Deviation* (RMSD). Hasil perhitungan RMSD menunjukkan bahwa semua nilai RMSD hasil validasi metode $< 2,5 \text{ \AA}$ sehingga dapat diketahui bahwa metode *docking* pada penelitian ini valid serta konformasi ligan alami yang *didocking* kembali (warna biru) mirip dengan konformasi ligan alami kristalografi (warna olive) seperti yang ditampilkan pada Gambar 1.

Docking molekuler

Docking molekuler adalah salah satu cara yang digunakan untuk memprediksi konformasi ligan molekul kecil di dalam situs pengikatan target yang sesuai dengan tingkat keakuratan yang besar, hasil dari *docking* molekuler ini adalah energi ikatan total yakni jumlah energi untuk membentuk ikatan antara ligan dan reseptor [15], [16].

Berdasarkan hasil *docking* molekuler yang diuraikan pada Tabel 1, dapat diketahui bahwa pada protein target 1LEE, energi ikatan *bisandrographolide C*, *andrographiside*, dan *ninandrographolide* lebih kecil dibandingkan ligan uji lainnya, meskipun nilai ini tidak lebih kecil dari ligan alami. Sedangkan pada protein target 1NHG, tiga senyawa yang memiliki nilai energi ikatan terkecil adalah *bisandrographolide C*, *14-acetylandrographolide* dan *daucosterol*, dimana nilai ini lebih kecil dari nilai energi ikatan ligan alami. Demikian juga dengan protein target 7F3Z, tiga senyawa uji dengan energi ikatan terkecil adalah *14-acetylandrographolide*, *neoandrographolide* dan *andrographic acid*. Oleh karena itu, senyawa-senyawa ini diprediksi memiliki aktivitas yang baik terhadap protein-protein target yang diujikan karena semakin kecil energi ikatan, maka ikatan tersebut semakin stabil [13].

Mode pengikatan ligan uji, atau cara ligan uji berinteraksi dengan residu asam-asam amino protein target, adalah parameter tambahan yang diamati dalam *docking* molekuler. Visualisasi hasil *docking* molekuler menunjukkan bahwa beberapa asam amino yang berinteraksi dengan ligan uji mirip dengan ligan alami. Pada tabel 2 dapat diamati tiga ligan uji dengan aktivitas terbaik terhadap protein target 1LEE yaitu nilai energi ikatan terkecil dan asam amino yang terlibat mirip dengan ligan alami baik melalui ikatan hidrogen, ikatan π dan interaksi van der Waals.

Pada tabel 3, dapat diamati tiga ligan uji terbaik yang berinteraksi dengan protein target 1NHG yaitu *bisandrographolide C*, *14-acetylandrographolide*, dan *daucosterol*. Energi ikatan dari ketiga senyawa ini lebih kecil daripada ligan alami. Sementara itu, asam-asam amino yang berinteraksi dengan ketiga senyawa ini juga lebih banyak dibandingkan ligan alami dan merupakan residu yang penting yaitu Tyr277, Met281, Lys285, Ala312 dan Pro314. Residu asam amino tersebut memainkan peran penting pada fungsi katalitik dari enzim PfENR [10]. Gugus lakton pada *14-acetylandrographolide* berinteraksi dengan residu Lys 285 melalui ikatan hidrogen, sedangkan residu asam amino lainnya berinteraksi dengan ketiga ligan uji tersebut melalui ikatan *van der Waals*.

Di sisi lain, tiga senyawa dengan aktivitas terbaik terhadap target 7F3Z adalah *14-acetylandrographolide*, *andrographic acid*, dan *neoandrographolide* (tabel 4). Selain energi ikatan yang lebih kecil, asam amino yang berinteraksi dengan ketiga senyawa tersebut merupakan asam amino penting dari sisi aktif *P. falciparum dihydrofolate*



reductase-thymidylate synthase yakni Asp54, Cys15, Ile14, Asn108, Phe58, Pro113, Ile112 dan Met55 [17]. Gugus lakton dari *14-acetylandrographolide* berinteraksi melalui ikatan hidrogen dengan residu Asn108. Demikian juga dengan gugus *O-glycans* dari *andrographic acid* berinteraksi dengan Asn108 melalui ikatan hidrogen. Gugus lakton *andrographic acid* berinteraksi melalui ikatan karbon-hidrogen dengan residu Cys15. Selain itu, *neoandrographolide* juga berinteraksi dengan asam-asam amino penting dari protein target 7F3Z, yaitu gugus alkohol membentuk ikatan hidrogen dengan Ile14.

Prediksi parameter farmakokinetik

Prediksi parameter farmakokinetik ini dilakukan menggunakan *webtool* SwissADME. Adapun parameter yang diamati adalah *drug-likeness* dan farmakokinetik.

Parameter *drug-likeness* menilai secara kualitatif peluang suatu molekul untuk menjadi obat oral sehubungan dengan bioavailabilitas, menggunakan 5 filter yakni Lipinski, Ghose, Veber, Egan dan Muegge. Pada penelitian ini dipilih filter Lipinski karena Lipinski *et al.* (2001) telah menganalisis 2.245 obat dari data dasar *World Drugs Index* dan filter ini dikenal sebagai *Lipinski's rule-of-five*. Berdasarkan hasil prediksi pada tabel 5, *14-acetylandrographolide*, *andrographic acid*, *neoandrographolide* dan *ninandrographolide* berpotensi dijadikan sebagai obat oral, dimana keempat senyawa ini memenuhi seluruh aturan Lipinski. *Bisandrographolide C* dan *daucosterol* juga berpotensi dijadikan obat oral walaupun tidak memenuhi 1 aturan yaitu berat molekul > 500 g/mol. Akan tetapi, *andrographiside* tidak memiliki peluang karena melanggar 2 aturan yakni berat molekul > 500 g/mol dan NH or OH > 5. Suatu senyawa obat akan tetap berpotensi sebagai obat oral apabila memenuhi empat dari lima kriteria yang telah ditetapkan dalam aturan Lipinski [18].

Prediksi parameter farmakokinetik untuk senyawa yang menjadi kandidat obat baru sangat penting dilakukan karena dapat digunakan untuk menentukan nasib obat di dalam tubuh. Agar senyawa dapat memberikan efek biologis yang diharapkan, ia harus mencapai targetnya dalam konsentrasi yang cukup dan tetap berinteraksi dalam bentuk bioaktifnya untuk waktu yang cukup lama [14].

Hasil analisis parameter farmakokinetik yang disajikan pada tabel 5 menunjukkan bahwa absorpsi *andrographiside*, *bisandrographolide C*, *daucosterol* dan *ninandrographolide* di saluran pencernaan rendah. *Bisandrographolide* memiliki berat molekul yang besar yakni 664,87 g/mol (>500) sehingga kelarutannya dalam air buruk. Demikian juga dengan *daucosterol*, senyawa ini bersifat lipofil, berat molekul besar (576,85 g/mol) dan kelarutan dalam air buruk. Sementara itu, *andrographiside* dan *ninandrographolide* memiliki kelarutan yang baik dalam air namun absorpsinya tetap rendah karena kedua senyawa ini bersifat terlalu polar. Sedangkan, *14-acetylandrographolide*, *neoandrographolide* dan *andrographic acid* absorpsinya di saluran pencernaan tinggi, karena ketiga senyawa ini memiliki berat molekul < 500 g/mol, kelarutan dalam air baik, sifat lipofilisitas dan polaritas yang memenuhi.

Seluruh senyawa uji diprediksi tidak berpenetrasi hingga ke *Blood Brain Barrier* (BBB). Akan tetapi, *14-acetylandrographolide*, *andrographic acid*, *andrographiside*, *bisandrographolide C*, *neoandrographolide* dan *ninandrographolide* merupakan substrat dari P-glikoprotein, yang artinya bioavailabilitas dari senyawa-senyawa tersebut akan menurun. Apabila suatu obat merupakan substrat dari P-gp, maka P-gp akan menangkap obat tersebut saat akan melakukan perjalanan melalui lipid bilayer dan mengembalikan molekul dari dalam ke luar *leaflet* hingga ke matriks ekstraseluler [19].

Isoenzim CYP memainkan peran penting dalam eliminasi obat melalui biotransformasi metabolik. Penghambatan enzim ini merupakan salah satu penyebab



utama interaksi obat yang terkait dengan farmakokinetik, yang mengarah pada toksisitas karena rendahnya pembersihan/eliminasi obat dan akumulasi obat atau metabolitnya [14]. *14-acetylandrographolide* dan *neoandrographolide* diprediksi menghambat CYP3A4, sedangkan lima senyawa lainnya tidak menghambat isoenzim CYP.

Penelitian ini merupakan penelitian eksploratif untuk menentukan mekanisme aksi dan prediksi profil farmakokinetik dari senyawa bioaktif *A. paniculata*, dimana dari hasil penelitian ini dapat diketahui apakah senyawa-senyawa tersebut memiliki aktivitas sebagai antimalaria atau tidak. Untuk mendapatkan data interaksi yang lebih komprehensif, perlu dilakukan studi lebih lanjut menggunakan metode *molecular dynamic* serta studi hubungan kuantitatif struktur-aktivitas agar dapat dilakukan modifikasi struktur untuk meningkatkan aktivitas dan memperbaiki sifat fisikakimia.

5. KESIMPULAN

Senyawa bioaktif dengan aktivitas terbaik terhadap target yang berperan pada penyakit malaria adalah *14-acetylandrographolide*, *andrographic acid*, *andrographiside*, *bisandrographolide C*, *daucosterol*, *neoandrographolide* dan *ninandrographolide*. Senyawa-senyawa ini diprediksi dapat mencapai targetnya dengan baik apabila diberikan secara oral berdasarkan filter Lipinski, kecuali *andrographiside*.

6. UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Riset dan Teknologi, Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi atas Pendanaan Program Penelitian Dosen Pemula tahun 2023 dengan nomor 0557/E5.5/AL.04/2023.

REFERENCES

- [1] World Health Organization. 2022. *World Malaria Report 2022*. Geneva: World Health Organization.
- [2] Kombonglangi, R. S. 2015. Manajemen terapi malaria falciparum yang resisten terhadap klorokuin. *Journal Majority* 4(6): 27-30.
- [3] Anindita, V., Mutiara, H., Mutiara, U. G. 2017. Mutasi gen kelch 13 dan resistensi *Plasmodium falciparum* terhadap obat antimalaria golongan artemisinin. *Medula* 7(5): 149-153.
- [4] Latifah, N., Subarnas, A., Chaerunisaa, A. Y. 2020. Antimalaria medicine and its mechanism: a review. *Majalah Farmasetika* 5(1): 39-48. <http://dx.doi.org/10.24198/mfarmasetika.v5i1.25927>
- [5] Anas, Y., Ratnani, R. D., Kurniasari, L., Hartati, I. 2020. Aktivitas antiplasmodium ekstrak hidrotropi daun sambiloto (*Andrographis paniculata* Ness.) secara *in vitro* pada *Plasmodium falciparum* strain G-2300 resisten kloroquin. *Jurnal Ilmu Farmasi dan Farmasi Klinik* 17(1): 1-7. <http://dx.doi.org/10.31942/jiffk.v17i01.3479>
- [6] Resi, E. K. 2014. Effect of antimalaria herbal sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.) on morphology changes of development and parasite *Plasmodium falciparum*. *Jurnal Info Kesehatan* 12(1): 661-671.
- [7] Mishra, K., Dash, A. P., Dey, N. 2011. Andrographolide: a novel antimalarial diterpene lactone compound from *Andrographis paniculata* and its interaction with curcumin and artesunate. *Journal of Tropical Medicine* 2011(579518): 1-6. <https://doi.org/10.1155/2011/579518>
- [8] Niranjana, A., Tewari, S. K., Lehri, A. 2010. Biological activities of *Kalmegh*



- (*Andrographis paniculata* Nees) and its active principles-a review. *Indian Journal of Natural Products and Resources* 1(2): 125-135.
- [9] Asojo, O. A., et al. 2022. Structure of Ser205 mutant plasmepsin II from *Plasmodium falciparum* at 1.8 Å in complex with the inhibitors rs367 and rs370. *Acta Crystallographica Section D Biological Crystallography* 58: 2001-2008. <https://doi.org/10.1107/s0907444902014695>
- [10] Perozzo, R., et al. 2002. Structural elucidation of the specificity of the antibacterial agent triclosan for malarial enoyl acyl carrier protein reductase. *The Journal of Biological Chemistry* 277(15): 13106-13114. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112000200>
- [11] Chaianantakul, N., et al. 2020. Antimalarial effect of cell penetrating peptides derived from the junctional region of *Plasmodium falciparum* dihydrofolate reductase-thymidylate synthase. *Peptides* 131: 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2020.170372>
- [12] Kupka, R. 2016. The role of folate in malaria-implication for home fortification programmes among children aged 6-59 months. *Maternal & Child Nutrition* 11(Suppl 4): 1-15. <https://doi.org/10.1111.mcn.12102>
- [13] Bahi, R, R, R., Herowati, R., Harmastuti, N. 2020. Studi biokemoinformatika kandungan kimia daun sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees) sebagai antihiperqlikemia serta prediksi parameter farmakokinetik dan toksisitas. *Pharmacy: Jurnal Farmasi Indonesia* 17(2): 466-477. <https://doi.org/10.30595/pharmacy.v17i2.8944>
- [14] Daina, A., Michielin, O., Zoete, V. 2017. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports* 7:1-13. <https://doi.org/10.1038/srep42717>
- [15] Meng XY, Zhang HX, Mezei M, Cui M. 2011. Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. *Current Computer-Aided Drug Design* 7: 146-157. <https://doi.org/10.2174/157340911795677602>
- [16] Guedes IA, Magalhaes CS de, Dardenne LE. 2014. Receptor-ligand molecular docking. *Biophysical Review* 6: 75-87. <https://doi.org/10.1007/s12551-013-0130-2>
- [17] Singh, I, V., and Mishra, S. 2018. Molecular docking analysis of pyrimethamine derivatives with *Plasmodium falciparum* dihydrofolate reductase. *Bioinformation* 14(5): 232-235. <https://doi.org/10.6026/97320630014232>
- [18] Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., Feeney, F. J. 2001. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews* 23: 3-25. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(00\)00129-0](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(00)00129-0)
- [19] Chakraborty, P., Ramakrishnan, M. 2016. Role of P-glycoprotein in chemotherapeutic drug resistance and mechanisms of pump deactivation to overcome MDR in cancer cells—a critical review. *Frontiers in Biomedical Sciences* 1(2):31-38.

