

Pharmacophore Modeling, Virtual Screening, And Molekular Docking Metabolite Compound From Salam Leaf Extract (*Syzygium polyanthum* (wight) walp.) As Antihypertensive Compound

Pemodelan Farmakofor, Skrining Virtual, Dan Penambatan Molekul Senyawa Metabolit Dalam Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (wight) walp.) Sebagai Senyawa Antihipertensi

Diah Siti Fatimah^{1*}, Shella Widiyastuti¹, Dede Jihan Oktaviani¹, Quinzheilla Putri Arnanda¹, Shinta Lestari¹, Saqila Alifa Ramadhan¹, Sandra Megantara¹

¹Fakutas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Jawa Barat 45363, Indonesia

*Email: diah16001@mail.unpad.ac.id

ABSTRACT

Hypertension is a non-communicable disease that affects many people of the world with the role of angiotensin converting enzyme (ACE). Salam leaves (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) is a plant that contains a lot of secondary metabolites that have antihypertensive activity. The purpose of this study was to determine the active compounds of salam leaves which have antihypertensive activities. The method that used was in silico technique which consists of pharmacophore modeling, virtual screening, and molecular docking of secondary metabolites in salam leaves. The parameters that used in this study were fit pharmacophore score, % hit rate, % yield, Area Under Curve (AUC) value, Rule of Five Lipinski value, Gibbs energy, and Root Mean Square Deviation (RMSD) value. The results of pharmacophore model validation showed a pharmacophore fit score of 48.49; hit rate of 88.80%; AUC 100% of 0.82; and an EF1% value of 1.1. The results of pharmacophore modeling of the active group showed that there are three hydrogen acceptor groups. The results of virtual screening with gallic acid showed a hit rate of 100%, pharmacophore fit score of 48.03%, and fulfilled all Lipinski's Rule of Five criteria. The results of molecular docking of gallic acid with ACE receptors obtained the best affinity at $\Delta G = -6.1$ kcal/mol and RMSD 0.00. This showed that gallic acid has a less affinity for ACE receptors compared to enalaprilate with $\Delta G = -9.1$ kcal / mol.

Keywords: pharmacophore, hypertension, molecular docking, virtual screening, *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.

Corresponding Author: Diah Siti Fatimah

Address: Fakutas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Sumedang, Indonesia, 45363

Email: diah16001@mail.unpad.ac.id

ABSTRAK

Hipertensi merupakan penyakit tidak menular yang banyak diderita masyarakat dunia dengan adanya peran dari *angiotensin converting enzyme* (ACE). Daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) merupakan tumbuhan yang banyak mengandung golongan metabolit sekunder yang memiliki aktivitas sebagai antihipertensi. Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk mengetahui senyawa aktif pada daun salam yang memiliki aktivitas sebagai antihipertensi. Metode yang dilakukan adalah teknik *in silico* yang terdiri dari pemodelan farmakofor, skrining virtual, dan penambatan molekular terhadap metabolit sekunder dalam daun salam. Parameter yang digunakan dalam penelitian berupa *pharmacophore fit score*, % *hit rate*, % *yield*, nilai *Area Under Curve* (AUC), nilai *Lipinski's Rule of Five*, energi *Gibbs*, dan nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD). Hasil validasi model farmakofor menunjukkan nilai *pharmacophore fit score* sebesar 48,49; *hit rate* sebesar 88,80% ; AUC100% sebesar 0,82; dan nilai EF1% sebesar 1,1. Hasil pemodelan farmakofor dari gugus aktif menunjukkan bahwa terdapat tiga gugus akseptor hidrogen. Hasil skrining virtual dengan asam galat menunjukkan *hit rate* 100%, nilai *pharmacophore fit score* sebesar 48,03%, dan memenuhi semua kriteria *Lipinski's Rule of Five*. Hasil penambatan molekul ligan asam galat dengan reseptor ACE diperoleh afinitas terbaik pada $\Delta G = -6,1$ kkal/mol dan RMSD 0,00. Hal ini menunjukkan bahwa asam galat memiliki afinitas yang kurang baik terhadap reseptor ACE dibandingkan dengan enalaprilat dengan $\Delta G = -9,1$ kkal/mol.

Kata kunci: farmakofor, hipertensi, penambatan molekular, skrining virtual, *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.

PENDAHULUAN

Hasil riset kesehatan dasar pada tahun 2018, menunjukkan bahwa terjadi peningkatan trend PTM (Penyakit Tidak Menular) pada masyarakat Indonesia dibandingkan dengan tahun 2013 dimana 34,1% penduduk Indonesia tercatat mengalami hipertensi. Hipertensi merupakan suatu kondisi ketika tekanan darah sistolik mencapai angka di atas 140 mmHg dan tekanan darah diastolik

dapat mencapai angka di atas 90 mmHg (Harvey, 2012).

Keadaan hipertensi sangat berkaitan erat dengan Renin Angiotensin Aldosterone System atau RAAS. Pada sistem RAAS, renin yang berasal dari sel juxtaglomerular ginjal bekerja dengan mengaktifkan angiotensinogen (enzim yang ada di hati) menjadi angiotensin I, angiotensin I akan berubah menjadi angiotensin II dengan bantuan *angiotensin*

converting enzyme (ACE) yang meningkatkan tekanan darah (Bartunek and Vanderheyden, 2013).

Salam atau *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp. merupakan tanaman dari suku myrtaceae yang sudah turun temurun digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai bahan ramuan obat tradisional dengan khasiat diantaranya yaitu mengurangi dislipidemia terutama hipertriglisideridemia, menurunkan kadar LDL, dan berpotensi dalam menurunkan kadar asam urat (Elfahmi *et al.*, 2014; Harismah dan Chusniatun, 2016).

Kandungan kimia daun salam meliputi beberapa metabolit sekunder seperti tanin, alkaloid, flavonoid (rutin dan kuersetin), steroid, dan triterpenoid (Kusuma *et al.*, 2011). Selain itu, ekstrak daun salam juga diketahui mengandung senyawa fenolat seperti asam galat, katekin, asam kafeat, dan eugenol (Lelono *et al.*, 2009). Daun salam memiliki beberapa aktivitas farmakologis diantaranya yaitu antioksidan, antidiabetes, antihipertensi, antimikroba, antidiare, antikanker, antitumor, penurun lipid, penghambat flak gigi, dan *acethylcholin-esterase inhibitor* (Ismail dan Ahmad, 2019).

Farmakofor merupakan posisi geometrik tiga dimensi dari gugus-gugus yang terdapat di dalam suatu ligan yang membentuk suatu pola yang unik yang dapat dikenali oleh reseptor secara spesifik yang bertanggung jawab terhadap proses pengikatan ligan dengan suatu reseptor dan aktivasi dari reseptor tersebut (Thomas, 2007). Tujuan dilakukannya pemodelan farmakofor yaitu untuk melihat bagaimana tingkat kemiripan antara senyawa serta modifikasinya dengan ligan standar dengan dilakukan skrining virtual menggunakan model 3D farmakofor berbasis fitur yang tervalidasi (Dermawan *et al.*, 2019).

LigandScout merupakan sebuah *software* yang berbasis pada operasi system linux yang bekerja dengan membuat farmakofor suatu kompleks ligan dan protein, yang memungkinkan untuk secara cepat dan transparan memperoleh farmakofor 3D dari data struktural makromolekul/ligan kompleks (Funkhouser, 2007).

Oleh karena itu, dilakukan penelitian dengan tujuan untuk membuat dan menentukan farmakofor dari suatu kompleks ligand-protein yang terdapat

di DUD.E (*a Database of Useful Decoys Enhanced*) dude.docking.org, dengan menggunakan software premium *LigandScout* 4.1 (Wolber and Inte:Ligand GmbH).

METODE PENELITIAN

1. Alat

Perangkat keras yang digunakan adalah *personal computer* dengan spesifikasi AMD A9-9420e Radeon R5, 5 *Compute Cores* 2C+3G 1,80 GHz, RAM 4,00 GB, dan *System type* 64-bit *Operation System* x64-based *processor*. Perangkat lunak yang digunakan adalah perangkat lunak *AutoDockTools* 1.5.6, perangkat lunak BIOVIA® *Discovery Studio* 2017, perangkat lunak *ChemBioOffice Ultra* 2010, perangkat lunak premium *LigandScout* 4.09.1 (Wolber and Inte:Ligand GmbH), dan perangkat lunak PyRx 0.8.

2. Bahan

Bahan yang digunakan meliputi database *decoy* dan *active* dari file unduhan dari *website* DUDE dari reseptor ACE serta senyawa uji kuersetin dan ligan standar dengan format sdf.

3. Tahapan Penelitian

Tahapan yang dilalui dalam penelitian ini mencakup:

a) Preparasi Reseptor

Struktur reseptor *Angiotensin I-Converting Enzyme* (PDB ID: 1UZE) yang digunakan pada penelitian ini diunduh dari situs *Protein Data Bank* (PDB) yang kemudian dipisahkan dengan ligan dan air serta ditambahkan muatan.

b) Preparasi Ligan

Ligan standard enalaprilat diperoleh dari hasil pemisahan dengan reseptor *Angiotensin I-Converting Enzyme*. Sedangkan, ligan kuersetin, kuersetin glikosida, asam galat, katekin, rutin, eugenol didesain dengan menggunakan perangkat lunak *ChemBioOffice Ultra* 2010 dan dilakukan optimasi.

c) Preparasi *Database Active/Decoy* Senyawa Uji

File database *active* dan *decoys* diunduh pada *website* <http://dude.docking.org/targets> dengan tipe reseptor ACE. Database *active* dan *decoys* yang sudah diunduh dipreparasi masing-masing menjadi 100 dan 400 senyawa. Kemudian,

ligan standar enalaprilat yang sudah dalam model 3D disiapkan dalam format mdl mol/sdf (mol.sdf) dengan menggunakan perangkat lunak BIOVIA® *Discovery Studio*. Setelah itu, *database* masing-masing senyawa dipreparasi dengan perangkat lunak *LigandScout* 4.09.1 dengan memastikan pada bagian ‘*type*’ berupa ‘*training*’ untuk *database active* dan *decoys*, serta ‘*test*’ untuk senyawa uji dan ligan standar. Kemudian simpan *database* dengan format .ldb.

d) Validasi Metode Komputasi

Validasi meliputi validasi metode penambatan molekul yang dilihat dari nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) hasil penambatan ulang (*re-docking*) ligan standard dan validasi pemodelan farmakofor yang dilihat dari nilai AUC dan EF dari kurva *Receiver Operating Characteristic* (ROC) hasil skrining 100 *actives set* dan 400 *decoys set*.

e) Pemodelan Farmakofor

Pemodelan farmakofor dilakukan terhadap ligan standar enalaprilat. Pada perangkat lunak *LigandScout* 4.09.1 dilakukan minimisasi senyawa, kemudian dilakukan *cluster* untuk mendapat beberapa *cluster*. Dari

masing-masing senyawa dengan *ClusterID* yang sama dipilih satu senyawa dengan *type* ‘*training*’ dan yang lainnya ‘*ignore*’. Setelah melewati proses ‘*Create Pharmacophore*’ akan didapatkan model farmakofor dan disimpan dengan format .pmz.

f) Virtual Screening

Skrining dilakukan terhadap senyawa uji yang sudah dipreparasi, kemudian *screening* dilakukan dengan perangkat lunak *LigandScout* 4.09.1 dan memasukkan *database* senyawa uji (ditandai warna hijau) dan *decoys* (ditandai warna merah) dan kemudian *running*. Setelah selesai akan didapatkan senyawa yang hit.

g) Simulasi Penambatan Molekul (*Docking Simulation*)

Penambatan molekul dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak *PyRx*. Hasil docking kemudian divisualisasi dengan menggunakan perangkat lunak *Autodock* dan menggunakan perangkat lunak *BIOVIA® Discovery Studio* untuk melihat interaksi antara reseptor dan ligan. Hasil *binding affinity* dipilih dari nilai yang paling negatif yang

menunjukkan konformasi ligan dengan reseptor yang paling stabil.

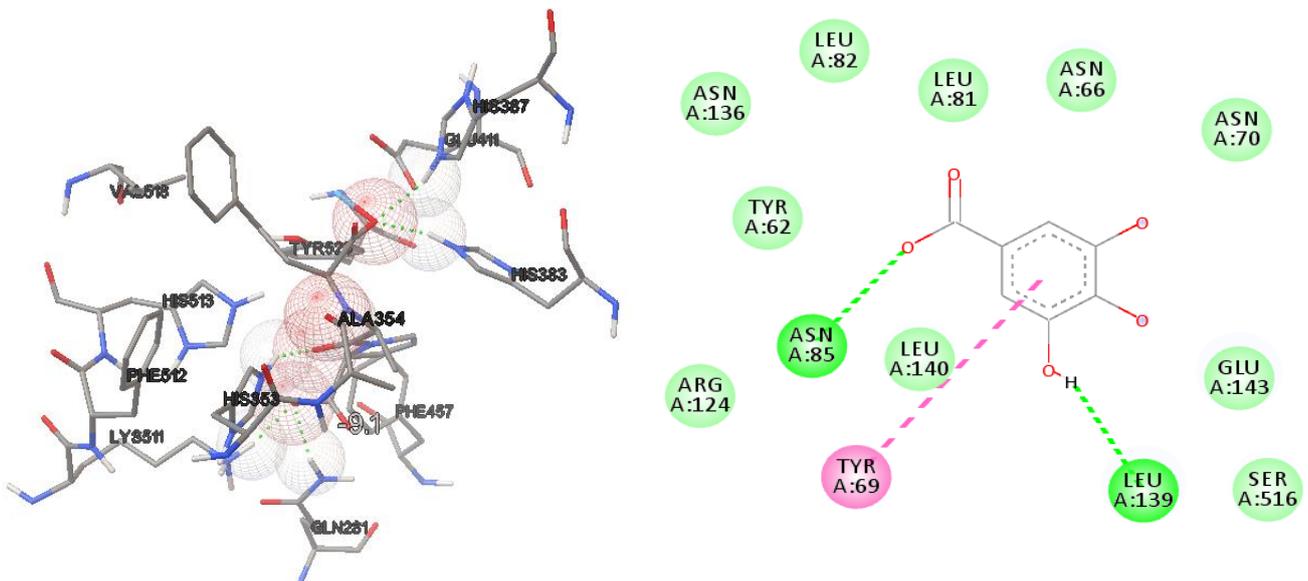
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

1. Hasil Preparasi Reseptor dan Ligan

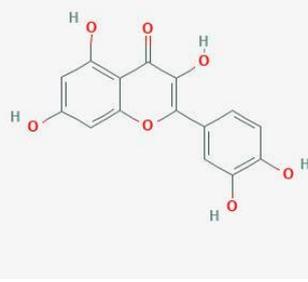
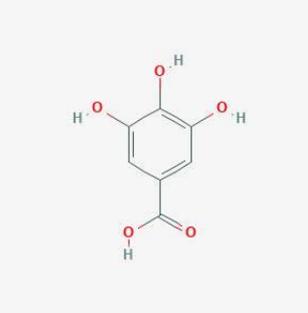
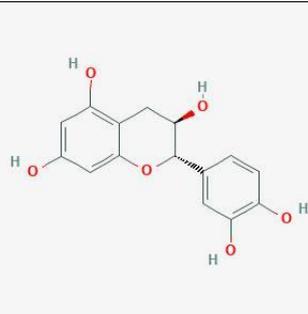
Struktur reseptor yang digunakan pada penelitian ini adalah reseptor *Angiotensin Converting Enzyme*/ACE yang diunduh dari situs *Protein Data Bank* (PDB) melalui

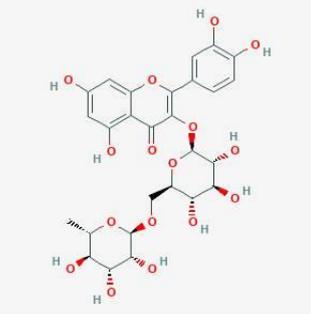
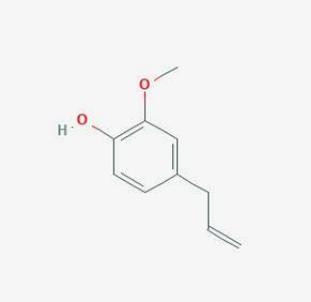
<http://www.rcsb.org/> dengan kode yang merupakan *Angiotensin Converting Enzyme* pada manusia yang terkompleks dengan ligan antagonisnya (enalaprilat) yang diunduh dengan format berkas .pdb. Pada preparasi ligan terdiri dari preparasi ligan standar enalaprilat dan ligan uji kuersetin, kuersetin-3'-O-glikosida, asam galat, rutin, katekin, dan eugenol. Kompleks reseptor 1UZE dengan ligan standar enalaprilat dapat dilihat pada Gambar 1, dan hasil komputasi kandidat ligan uji dapat dilihat pada Tabel 1.



Gambar 1. Kompleks Reseptor *Angiotensin Converting Enzyme* (PDB ID: 1UZE) dengan Ligan Standar Enalaprilat

Tabel 1. Hasil Komputasi Kandidat Ligan Uji

No	Nama Molekul	Rumus Molekul	Struktur	BM	Akseptor Ikatan Hidroge	Donor Ikatan Hidroge
					n	n
1.	Kuersetin	$C_{15}H_{10}O$ 7		302.2 3 g/mol	2	2
2.	Kuersetin-3'-O-Glikosida	$C_{21}H_{19}O$ 12		463.4 g/mol	3	3
3.	Asam Galat	$C_7H_6O_5$		170.1 2 g/mol	3	4
4.	Katekin	$C_{15}H_{14}O$ 6		290.2 7 g/mol	5	4

5.	Rutin	C ₂₇ H ₃₀ O 16		610.5 g/mol	6	7
6.	Eugenol	C ₁₀ H ₁₂ O 2		164.2 g/mol	1	1

Tabel 2. Hasil Validasi *Docking*

Kode PDB	Grid Box			Cluster RMSD (Å)	Ref. RMSD (Å)	Energi Ikatan (ΔG)	Ikatan Hidrogen	Ikatan Π-Π	Ikatan Π-Kation	Residu Asam Amino
	X	Y	Z							
1UZE	40,5 6	37,5 4	43,4 4	0	1,82	-9,1	6	-	1	Val518, Glu411, His387, His513, His383, Ala354, His353, Phe512, Lys511, Phe457

2. Hasil Validasi Metode Penambatan Molekul (*Docking*)

Validasi metode penambatan molekul (*docking*) dilakukan untuk membuktikan serta memastikan bahwa metode yang digunakan memenuhi syarat validitas dan dapat digunakan untuk pengujian molekul lainnya serta meminimalisir kesalahan. Validasi metode penambatan molekul dilakukan

dengan penambatan ulang ligan standar yang sudah dipisahkan dari reseptornya menggunakan perangkat lunak PyRx. Validasi ini juga disebut dengan istilah *re-docking*. Hasil validasi metode penambatan molekul (*Docking*) dapat dilihat pada Tabel 2.

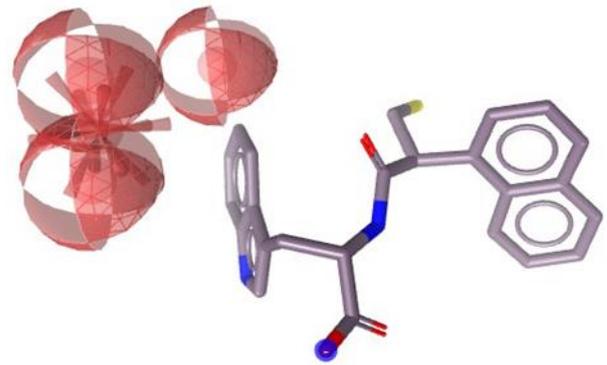
3. Hasil Validasi Pemodelan Farmakofor

Hasil validasi dapat dilihat pada kurva *Receiver Operating Characteristic*

(ROC) dimana sumbu x merupakan laju senyawa decoy dan sumbu y adalah laju senyawa actives. Nilai AUC (*Area Under Curves*) dan EF (faktor pengayaan) yang didapatkan dari kurva menunjukkan kemampuan tambatan untuk membedakan ligan asli dalam banyak senyawa umpan. Semakin tinggi nilai AUC dan EF maka semakin baik kinerja penyaringan virtual. Hasil yang diperoleh 444 hit yang merupakan kumpulan ligan terbaik dengan nilai AUC sebesar 0,82 dan nilai faktor pengayaan (EF) adalah 1,1 sehingga dikatakan valid.

4. Hasil Pemodelan Farmakofor

Pemodelan farmakofor dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak *LigandScout* 4.09.1 yang dapat dilihat pada Gambar 2.

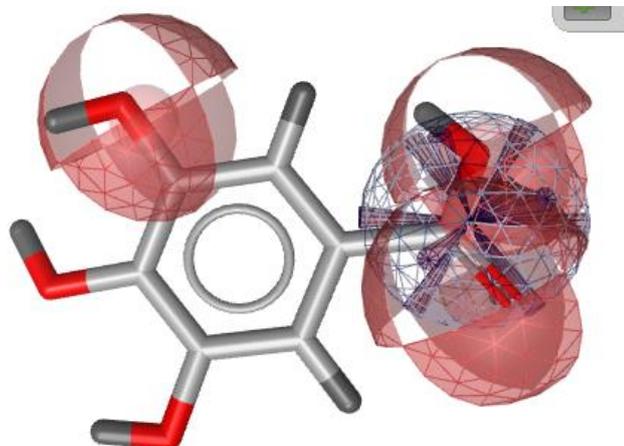


Gambar 2. Hasil Pemodelan Farmakofor

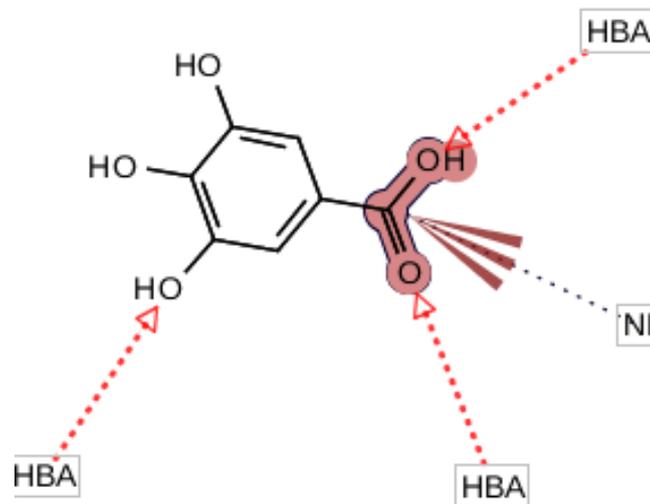
Keterangan: bulatan merah merepresentasikan akseptor ikatan hidrogen

5. *Virtual Screening*

Hasil pengujian menunjukkan bahwa dari semua metabolit yang diujikan, asam galat merupakan satu-satunya metabolit sekunder yang dapat hit dengan reseptor ACE 3bkl dengan nilai *pharmacophore-fit* sebesar 48,03% yang dapat dilihat pada Gambar 3 dan 4, dan karakteristik pemodelan farmakofor asam galat dengan reseptor ACE dapat dilihat pada Tabel 3.



Gambar 3. Hasil Skrining Model Farmakofor dengan Asam Galat (3D)



Gambar 4. Hasil Skrining Model Farmakofor dengan Asam Galat (2D)

Tabel 3. Karakteristik Pemodelan Farmakofor Asam Galat dengan Reseptor ACE

# Heavy Atoms	# Rot. Bonds	cLogP	# Rings	MolWt	# Acceptors	# Donors
12	5	0.27	1	170.12	5	3

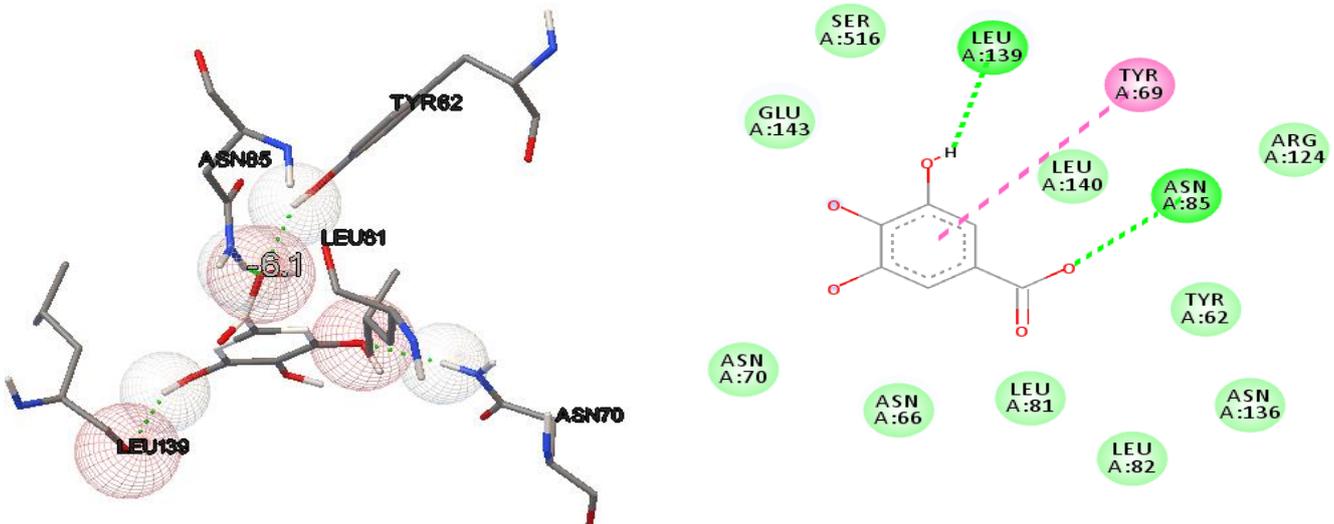
Tabel 4. Hasil Simulasi *Docking* Asam Galat dengan Reseptor

Senyawa	Cluster RMSD (Å)	Ref. RMSD (Å)	Energi Ikatan (ΔG)	Ikatan Hidroge n	Ikatan Π- Π	Ikatan Π- Π- Kation	Residu Asam Amino
Asam gala	0	1,82	-6,1	4	-	-	Ikatan Hidrogen LEU A: 139 ASN A: 85 Ikatan Hidrofob GLU A: 143 SER A: 516 LEU A: 140 ARG A: 124 TYR A: 62 ASN A: 136 LEU A: 82 LEU A: 81 ASN A: 66 ASN A: 70

6. Simulasi Penambatan Molekul (*Docking Simulation*)

Hasil penambatan senyawa asam galat dengan reseptor 1UZE *Angiotensin converting enzyme*, diketahui bahwa semua senyawa memiliki energi ikatan yang baik karena nilai berada pada angka minus. Nilai energi ikatan daun salam diperoleh sebesar -6,1 dengan jumlah ikatan hydrogen sebanyak 4 dan dengan nilai RMSD 0,0 dimana nilai tersebut yang merupakan hasil RMSD terbaik dari proses docking yang dilakukan (nilai berada di tabel paling atas). Hasil simulasi *Docking* asam galat dengan reseptor dapat dilihat pada Tabel 4.

Berdasarkan hasil visualisasi, dapat terlihat bahwa asam galat memiliki ruang-ruang berwarna biru yang merupakan atom pendonor hidrogen dan juga satu ruang warna merah menunjukkan atom penerima hidrogen. Selain itu juga terdapat ikatan hidrofob yang digambarkan dengan bola berwarna hijau. Adapun residu asam amino penting dari asam galat dengan reseptor ini adalah leu a: 139 asn a: 85 yang berperan dalam ikatan hydrogen, dan glu a: 143, ser a: 516, leu a: 140, arg a: 124, tyr a: 62, asn a: 136, leu a: 82, leu a: 81, asn a: 66, dan asn a: 70 yang berperan dalam ikatan hidrofob seperti yang terlihat dalam Gambar 5.



Gambar 5. Interaksi Asam Galat dengan Reseptor ACE

Pembahasan

1. Preparasi Reseptor

Struktur reseptor yang digunakan pada penelitian ini adalah reseptor *Angiotensin I-Converting Enzyme* (PDB ID: 1UZE) yang dipilih sebagai reseptor untuk target obat hipertensi karena reseptor tersebut memiliki nilai resolusi 1,82 Å, dimana nilai resolusi tersebut termasuk dalam kategori baik karena kurang dari 2 Å. Apabila reseptor memiliki nilai resolusi lebih dari 2 Å, maka jarak antara ligan dan reseptor semakin jauh sehingga tidak selektif. Struktur 1UZE dapat membentuk kompleks dengan ligan antagonisnya (enalaprilat) dan dapat mengikat molekul air, sehingga sebelum melakukan *docking* harus menggunakan perangkat lunak *BIOVIA Discovery Studio 2017* untuk penghilangan air dan ligan untuk memisahkan ligan dan reseptor awal. Hasil dari proses ini yaitu struktur makromolekul yang telah terpisah dengan ligan dan disimpan dalam berkas dengan format .pdb. Pada struktur makromolekul yang dihasilkan, selanjutnya ditambahkan dengan atom hidrogen polar dan muatan Kollman pada program *AutoDockTools 1.5.6*. Penambahan

atom hidrogen polar dan muatan Kollman dilakukan agar sesuai dengan lingkungan *docking* sehingga dapat dilakukan kalkulasi yang tepat. Hasil dari proses ini yaitu reseptor yang disimpan dalam berkas dengan format .pdbqt.

2. Preparasi Ligan

Preparasi ligan terdiri dari preparasi ligan standar dan ligan uji. Ligan standar yaitu enalaprilat diperoleh dari proses pemisahan struktur 1UZE dengan menggunakan perangkat lunak *BIOVIA® Discovery Studio*. Sedangkan preparasi untuk ligan uji yaitu kuersetin, kuersetin-3'-O-glikosida, asam galat, rutin, katekin, dan eugenol dibuat dan dimodelkan struktur 2Dnya dengan menggunakan perangkat lunak *ChemBioOffice Ultra 2010*, kemudian dilakukan optimasi geometri strukturnya menjadi 3D dengan menggunakan *Chem3D*. Setelah itu, berkas disimpan dengan format .pdb. Dalam pengubahan berkas dengan format .pdbqt. dilakukan dengan menggunakan program *AutoDockTools 1.5.6*, sehingga diperoleh ligan yang siap untuk dilakukan penambatan molekul.

3. Validasi Metode Penambatan Molekul (*Docking*)

Dalam penelitian ini ligan standar yang digunakan yaitu enalaprilat dan reseptornya yaitu reseptor *Angiotensin I-Converting Enzyme*. Validasi ini didasarkan pada *Root Mean Square Deviation* (RMSD) terbaik yang memenuhi persyaratan $< 2\text{\AA}$ sehingga perlu dilakukan optimasi jarak terlebih dahulu untuk menentukan nilai RMSD. Penentuan daerah ikatan (*grid box*) dilakukan untuk membatasi ruang pencarian konformasi ligan pada proses *docking*. *Grid box* yang dihasilkan dari penambatan ulang enalaprilat terhadap reseptor angiotensin I-converting enzyme yaitu $x= 40,56$; $y= 37,54$; dan $z= 43,44$ dengan nilai RMSD yaitu $1,82\text{\AA}$ sehingga dapat dikatakan bahwa metode penambatan molekul valid. Selain itu, dapat dilihat pula dari energi bebas Gibbs (ΔG) yang mana semakin kecil nilainya menunjukkan bahwa konformasi yang terbentuk stabil. Energi bebas Gibbs (ΔG) yang dihasilkan dari penambatan ulang enalaprilat terhadap reseptor angiotensin I-converting enzyme yaitu $-9,1\text{ kcal/mol}$ yang artinya konformasi yang terbentuk stabil. Terdapat beberapa residu asam amino krusial

yang terdapat pada sisi aktif dari reseptor angiotensin I-converting enzyme yaitu Val518, Glu411, His387, His513, His383, Ala354, His353, Phe512, Lys511, dan Phe457 yang membentuk interaksi antara ligan-reseptor berupa 6 ikatan hidrogen dan 1 ikatan π -kation.

4. Validasi Pemodelan Farmakofor

Validasi metode pemodelan farmakofor dan skrining dilakukan terlebih dahulu untuk memastikan reabilitas dari farmakofor dengan perangkat lunak *LigandScout* 4.09.1. Validasi ini dilakukan terhadap serangkaian tes set yang terdiri dari *actives set* (kumpulan ligan aktif saat ditambatkan pada reseptor) dan *decoys set* (ligan yang memiliki kemiripan secara struktur dengan *actives set* tetapi tidak aktif saat ditambatkan pada reseptor).

Total senyawa yang digunakan pada validasi pemodelan farmakofor yakni 500 senyawa yang terdiri dari 100 *actives set* dan 400 *decoys set* yang diperoleh dari Database of Useful Decoys (DUDe). Hasil validasi dapat dilihat pada kurva *Receiver Operating Characteristic* (ROC) dimana sumbu x merupakan laju senyawa decoy dan sumbu y adalah laju senyawa actives.

Nilai AUC (*Area Under Curves*) dan EF (faktor pengayaan) yang didapatkan dari kurva menunjukkan kemampuan tambatan untuk membedakan ligan asli dalam banyak senyawa umpan. Semakin tinggi nilai AUC dan EF maka semakin baik kinerja penyaringan virtual. Hasil yang diperoleh 444 hit yang merupakan kumpulan ligan terbaik dengan nilai AUC adalah 0,82 dan nilai faktor pengayaan (EF) adalah 1,1 sehingga dikatakan valid.

5. Pemodelan Farmakofor

Pemodelan farmakofor dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak *LigandScout* 4.09.1 yang bertujuan untuk dapat mengidentifikasi bagian dari ligan standar yaitu enalaprilat yang bertanggung jawab terhadap aktivitas farmakologi. Hasil pemodelan farmakofor menunjukkan adanya tiga gugus akseptor hidrogen yang bertanggung jawab terhadap aktivitas farmakologis dari enalaprilat dengan nilai *pharmacophore-fit* sebesar 48,49% dan *hit rate* sebesar 88,80%.

6. Virtual Screening

Virtual screening dilakukan terhadap berbagai senyawa metabolit sekunder

yang terdapat pada daun salam seperti kuersetin, asam galat, rutin, katekin dan eugenol, asam galat untuk melihat senyawa yang dapat hit dengan reseptor ACE 3bkl. Hasil pengujian menunjukkan bahwa dari semua metabolit yang diujikan, asam galat merupakan satu-satunya metabolit sekunder yang dapat hit dengan reseptor ACE 3bkl dengan nilai *pharmacophore-fit* sebesar 48,03%. Hasil skrining model farmakofor asam galat menunjukkan bahwa asam galat memiliki tiga gugus akseptor hidrogen dan juga satu gugus yang bermuatan negatif terionisasi yang akan bertanggung jawab terhadap aktivitas farmakologisnya. Hasil ini memiliki kemiripan terhadap ligan standar enalaprilat yang memiliki tiga gugus akseptor elektron dengan nilai *pharmacophore-fit* sebesar 48,49%.

Hasil pemodelan farmakofor asam galat menunjukkan bahwa asam galat memenuhi syarat dari *Lipinski's Rule of Five* (tidak lebih dari 10 akseptor hidrogen, tidak lebih dari 5 donor hydrogen, rotatable bond kurang dari 15, log P kurang dari 5, dan berat molekul kurang dari 500) dan juga karakteristik seperti yang tertera pada Tabel 3.

7. Simulasi Penambatan Molekul (*Docking Simulation*)

Setelah proses validasi, dilakukan tahapan penambatan molekul dengan menggunakan aplikasi *PyRx*. Aplikasi *PyRx* adalah perangkat lunak yang merupakan kombinasi dari beberapa perangkat lunak lain seperti *AutoDock Vina*, *AutoDock 4.2*, *Mayavi*, *Open Babel*, dan lainnya yang dapat melakukan proses penambatan lebih cepat jika dibandingkan dengan penambatan menggunakan *software* *AutoDock*.

Penambatan molekul dilakukan pada senyawa asam galat yang sebelumnya pada tahap pemodelan farmakofor telah terbukti hit dengan reseptor ACE. Reseptor yang digunakan adalah reseptor *1UZE Angiotensin converting enzyme* yang telah di preparasi dan digunakan untuk validasi sebelumnya. Penambatan molekul dimulai dengan menekan tombol *start* pada bagian *Vina Wizard* pada aplikasi *PyRx*. Kemudian dilanjutkan dengan memasukkan molekul reseptor dan ligan yang telah di preparasi. Kemudian, pada bagian *Run Vina* di tekan tombol "*maximize*" untuk memaksimalkan koordinat kotak *grid* yang terbentuk.

Hasil penambatan yang didapatkan pada aplikasi *PyRx* selanjutnya di visualisasikan menggunakan perangkat lunak *AutoDockTools 1.5.6*. Setelah di visualisasi menggunakan *AutoDockTools 1.5.6*, maka dapat terlihat dengan jelas ikatan yang terbentuk antara reseptor dan ligan. Ikatan yang dapat terlihat adalah ikatan hidrogen dan ikatan hidrofob yang merupakan interaksi van der waals. Ikatan hidrogen dapat dilihat dari ruang biru dan merah yang berdekatan dalam struktur ligan dimana ruang berwarna biru merupakan atom pendonor hidrogen dan ruang warna merah menunjukkan atom penerima hidrogen. Kemudian, untuk ikatan hidrofob dapat terlihat jelas setelah visualisasi 2D dimana ikatan hidrofob akan digambarkan sebagai bola hijau pucat yang tidak terikat dengan ligan namun memiliki interaksi van der waals dengan ligan.

Dari hasil penambatan senyawa asam galat dengan reseptor ACE *1UZE*, diketahui bahwa semua senyawa memiliki energi ikatan yang baik karena nilai berada pada angka minus. Nilai energi ikatan daun salam diperoleh sebesar -6,1 dengan jumlah ikatan hydrogen sebanyak 4 dan dengan nilai RMSD 0,0 dimana nilai

tersebut yang merupakan hasil RMSD terbaik dari proses *docking* yang dilakukan (nilai berada di tabel paling atas).

KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa asam galat merupakan senyawa aktif pada daun salam yang memiliki aktivitas sebagai antihipertensi terhadap reseptor Angiotensin converting enzyme dengan menunjukkan hit rate 100%, nilai pharmacophore fit score sebesar 48,03%, dan memenuhi semua kriteria Lipinski's Rule of Five. Namun, Hasil penambatan molekul ligan asam galat dengan reseptor ACE menunjukkan afinitas terbaik pada $\Delta G = -6,1$ kkal/mol dan RMSD 0,00 yang artinya asam galat memiliki afinitas yang kurang baik terhadap reseptor ACE dibandingkan dengan enalaprilat dengan $\Delta G = -9,1$ kkal/mol.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih sebesar-besarnya kepada Bapak Dr. Sandra Megantara, M.Farm., Apt. selaku pembimbing yang telah membimbing dan membantu kami dalam penyusunan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Bartunek J, Vanderheyden M. 2013. *Translational Approach to Heart Failure*. New York: Springer.
- Dermawan D, Sumirtanuridin R, Dewantisari D. 2019. Molecular Dynamics Simulation of Estrogen Receptor Alpha Against Andrografolid as Anti Breast Cancer. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology* 6(2):65-76.
- Elfahmi, Woerdenbag H, Kayser O. 2014. Jamu: Indonesian Tradisional Herbal Medicine Towards Rational Phytopharmacological Use. *Journal of Hebal Medicine* 4:51-73.
- Funkhouser, T. 2007. *Protein-Ligand Docking Methods*. New Jersey: Princeton University.
- Harismah K, Chusniatun. Pemanfaatan Daun Salam (*Eugenol polyantha*) sebagai Obat Herbal dan Rempah Penyedap Makanan. *WARTA LPM* 19 (2):110-118.

Harvey, RA. 2012. *Pharmacology*. 5th Edition. Philadelphia: Lippincott Williams dan Wilkins.

Ismail A, Ahmad WANW. 2019. *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.: A Potential Phytomedicine. *Pharmacogn J* 11(2):429-438.

Kusuma IW, Kuspradini H, Arung ET, Aryani F, Min YH, Kim JS, *et al.* 2011. Biological Activity and Phytochemical Analysis of Three Indonesian Medicinal Plants, *Murraya koenigii*, *Syzygium polyanthum*, and *Zingiber purpurea*. *J Acupunt Meridian Stud* 4: 75-79.

Lelono RA, Tachibana S, Itoh K. 2009. In vitro Antioxidative Activities and Polyphenol Content of *Eugenia polyantha* Wight Grown in Indonesia. *Pak J Bio Sci* 12:1564-1570.

Thomas, E. 2007. Identification and Preliminary Structure Activity Relationship. *Journal Of Natural Product* 7(8):1278-1282.