



***In Silico* Analysis of Physical-Chemical Properties, Target Potential, and Toxicology of Pure Compounds from Natural Products**

Purnawan P. Putra*, Annisa Fauzana, Henny Lucida

Faculty of Pharmacy, Universitas Andalas, Padang, West Sumatra, Indonesia

Submitted 26 February 2020; Revised 6 July 2020; Accepted 14 August 2020; Published 30 October 2020

*Corresponding author: purnawanpp@phar.unand.ac.id

Abstract

Several studies have shown that pure compounds from west sumatera medicinal plants have beneficial therapeutic effects so that they are potential candidates for active pharmaceutical ingredients (API). Andalas Sitawa Fitolab has been able to produce 10 pure isolates. The development of a new drug candidate requires an *in silico* study to predict physicochemical properties, potential target, and toxic properties. The purpose of this study was to initially screen the structure of candidates to predict the potential the compound as an API by using big data and machine learning. The chemical structure were analyzed using software and servers. The Software used was Marvin Sketch, QSAR Toolbox, Swiss Potential Target and ChemBioDraw. Results showed that log P of compounds revealed in a range of -0.54 to 4.64, Polar Surface Area (PSA) in range of 20.23 to 315.21. Asiaticoside did not meet Lipinski's rules. Compounds with high potential hazard were catechin, curcumin, andrographolide, asiaticoside deoxyelephantopin, ethylmethoxycinnamate, alpha-mangostin and piperine. The compounds such as curcumin, alpha mangostin, plumbagin, and piperine were predicted to have spesific target proteins. This study concluded that asiaticoside compounds have a high potential hazard, if it was developed as an API.

Keywords: analysis of physical-chemical properties, *in silico*, pure isolate, toxicology

Analisis Sifat Fisika-Kimia, Potensi Target dan Toksikologi Senyawa Isolat Murni dari Bahan Alam dengan Metode *In Silico*

Abstrak

Beberapa penelitian sebelumnya menunjukkan isolat murni dari Sumatera Barat memiliki potensi yang sangat besar untuk dikembangkan menjadi *Active Pharmaceutical Ingredients* (APIs). PT Andalas Sitawa Fitolab telah memproduksi 10 isolat murni yang sangat potensial dikembangkan menjadi kandidat obat baru. Isolat murni yang diperoleh dari PT Andalas Sitawa Fitolab dianalisis secara *in silico* untuk memprediksi sifat fisikokimia, toksisitas dan potensi target. Uji *in silico* yang dilakukan menggunakan *big data* dan *Machine Learning* untuk memprediksi sifat fisika-kimia, potensi target dan sifat toksik. Tujuan dalam penelitian ini adalah penapisan awal untuk melihat potensi dari senyawa yang diperoleh. Sepuluh senyawa di gambar secara dua dimensi, dianalisis menggunakan perangkat lunak dan server. Perangkat lunak yang digunakan adalah Marvin sketch, QSAR Toolbox, *Swiss potentition target* dan ChemBioDraw dan dianalisis sifat kimia dari senyawa tersebut. Hasil yang diperoleh adalah Log P berada pada rentang -0,54 sampai 4,64 dan *Polar Surface Area* (PSA) pada rentang 20,23 sampai 315,21. Senyawa *asiaticoside* tidak memenuhi aturan Lipinski. Senyawa dengan potensi hazard tinggi adalah *catechin*, *curcumin*, *andrographolide*, *asiaticoside*, *deoxyelephantopin*, *ethylmethoxycinnamate*, *alpha mangostin* dan *piperine*. Senyawa *curcumin*, *alpha mangostin*, *plumbagin* dan *piperine* memiliki target protein spesifik. Dari hasil penelitan ini diperoleh prediksi senyawa *asiaticoside* memiliki potensi *hazard* tinggi jika dikembangkan menjadi senyawa obat.

Kata Kunci: analisis sifat fisika-kimia, *in silico*, isolat murni, toksikologi

1. Pendahuluan

PT Andalas Sitawa Fitolab didirikan pada tahun 2017 dan menjadi mitra bagi laboratorium Biota Sumatra, Universitas Andalas dalam upaya hilirisasi dan pemanfaatan hasil riset. Perusahaan ini memproduksi senyawa baku pembanding (*reference substances*) atau isolat murni tumbuhan obat Indonesia dan bahan baku obat tradisional terstandarisasi. Bahan-bahan yang dianalisis dalam penelitian ini adalah berasal dari database senyawa-senyawa baku pembanding yang diproduksi oleh PT Andalas Sitawa Fitolab terdiri dari 10 senyawa.¹ Bahan baku yang terstandarisasi diperoleh dari tumbuhan khas Sumatra Barat. Senyawa bahan baku pembanding ini telah diisolasi dan telah melalui proses pemurnian.

Pengembangan obat adalah proses dinamis yang berkembang dengan cepat dan dipermudah dengan komputer (*Machine Learning*). Pemodelan interaksi antara zat kimia dan target biologi memudahkan untuk pengembangan *pharmacophores* baru. Hasil pemodelan ini berupa *Structure-activity relationships* (SARs) untuk memprediksi efek dan proses dalam tubuh berdasarkan struktur kimia.² Metode analisis toksikologi secara *in silico* memberikan data yang penting untuk pengambilan keputusan dan panduan dalam desain obat, metode ini mampu meringkas waktu, menerapkan prinsip etika dengan penurunan jumlah hewan percobaan dan menghemat dana.³ Penggunaan komputasi dalam bidang penelitian kimia adalah tren baru dalam pengembangan obat baru seperti menggunakan *Artificial Intelligence* (AI), *database* dan *big data*, dengan demikian dapat membantu memahami sifat-sifat suatu senyawa jauh lebih cepat dan efektif dalam menapis calon obat baru.

Penelitian efek senyawa bahan alam masih dominan berbentuk *multiple compound* terhadap suatu penyakit. Senyawa bahan alam yang dianalisis efeknya berbentuk *single compound* dilakukan karena lebih spesifik terhadap target aksi. Dengan teknologi komputasi, molekul dapat didesain, diprediksi sifat fisika kimia dan prediksi metode dalam melakukan sintesis lebih efisien.

Tujuan penelitian ini adalah memberikan gambaran awal tentang sifat fisika-kimia, efek toksikologi dan potensi target menggunakan metode komputasi (*Machine Learning*). Hasil penelitian ini diharapkan menjadi data pembanding uji *in vivo* dan *in vitro* sehingga mampu mengurangi penggunaan hewan percobaan. Isolat murni yang telah diisolasi dari PT Andalas Sitawa Fitolab sebelumnya belum dilakukan uji SARs, dengan dilakukan uji tersebut diharapkan diperoleh gambaran awal kandidat obat yang akan diteliti, seperti data sifat fisika kimia, toksisitas dan potensi target. Setelah dikumpulkan data-data tersebut diharapkan dikembangkan obat baru yang berbasis bahan alam yang sangat kaya di Indonesia. Kandidat obat ini dapat didesain modifikasi rantai sampingnya dengan parameter-parameter yang digunakan. Data-data potensi target berupa enzim, protein dan makromolekul dapat dijadikan panduan dan prediksi dalam mengetahui efek dan target senyawa tersebut. Diharapkan dengan menggunakan metode komputasi efek dan target spesifik senyawa tersebut dapat digali lebih dalam sebelum dilakukan sintesis dan uji *in vivo* dan *in vitro*.

2. Metode

2.1. Bahan

Bahan yang digunakan adalah bahan isolat murni yang telah diketahui struktur molekulnya dari PT Andalas Sitawa selanjutnya digambar software di Marvin Sketch.

2.2. Perangkat lunak dan keras

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Komputer dengan *CPU Intel® Core (TM) i7-8565U CPU @2.50 GHz, Windows 10 64-Bit Operation System*. Perangkat lunak yang digunakan adalah Marvin Sketch versi 16.9.12, ChemBio versi 19.0.0.22, OECD QSAR Toolbox versi 4.3 dan *Swiss Target Prediction*.

2.3. Cara Kerja

Struktur kimia senyawa uji di gambar menggunakan *software* Marvin Sketch, selanjutnya senyawa tersebut dianalisis

kecocokan dan kesesuaian strukturnya, file senyawa tersebut disimpan dalam bentuk format. Sdf. Nama senyawa selanjutnya di input dalam pubchem <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>⁴ diperiksa kembali nama *International Union of Pure and Applied Chemistry* (IUPAC), dan kode *Chemical Abstract Service* (CAS), masing-masing nomor *Chemical Abstract Service* (CAS) disimpan. Format penyimpanannya yaitu data (.sdf) yang disimpan tersebut selanjutnya dianalisis menggunakan ChemBio. Dipilih bagian *analysis for chemical properties* untuk diperoleh hasil prediksi sifat kimia fisika dari masing-masing senyawa. Hasil Prediksi yang diperoleh menggunakan ChemBio adalah *Boiling Point* (K), *Melting Point* (K), *Critical Temperature* (K), *Critical Press* (Bar), *Gibbs Energy* (kJ/mol), *Log P*, *MR* (*Molar Refractivity*), *TPSA* (*Topological Polar Surface Area*), dan konstanta disosiasi asam (pKa). Analisis sifat toksisitas suatu senyawa dilakukan menggunakan software QSAR Toolbox, QSAR Toolbox adalah program komputer yang dikembangkan oleh *The Organisation for Economic Co-operation and Development* (OECD) dan *ECHA* (*European Chemical Agency*). Program ini terdiri dari *big data* yang diperoleh dari data eksperimental, hasil penelitian karakter struktur senyawa (*structural alerts*) yang menunjukkan sifat toksik, dan perangkat lunak ini mampu memprediksi parameter dua dimensi suatu senyawa, dapat digunakan juga untuk mengestimasi sifat suatu senyawa dengan pendekatan *read-across*, analisis kecenderungan (*trend analysis*) dan *Quantitative structure–activity relationship* (QSAR). Selanjutnya, *Chemical Abstract Service* (CAS) diinput kedalam perangkat lunak, selanjutnya dipilih profiling data meliputi data toksisitas mutagen, karsinogen, *lipinski rule of five*, dan *Toxic Hazard*.

3. Hasil

Hasil prediksi sifat fisika kimia senyawa seperti *Boiling Point* (K), *Melting Point* (K), *Critical Temperature* (K), *Critical Press* (Bar), *Gibbs Energy* (Kj/mol), *Log P*, *Molecular Weight* (g/mol), *Molar Refractivity*, *Polar*

Surface Area (PSA) disajikan pada Tabel 1. Prediksi toksisitas (Tabel 2) diperoleh *structure alert* seperti *Alkil-benzen* (Gambar 1), *Quinon* (Gambar 2), *alpha, beta-unsaturated carbonyls* (Gambar 3) dan *1,3-Benzodioxoles* (Gambar 4) yang dapat menyebabkan potensi karsinogen dan mutagen. Potensi target (Tabel 3) yang diperoleh yaitu *Monoamine oxidase A*, *Beta amyloid A4 protein*, *Histone acetyltransferase p300*, *Prostaglandin E synthase*, *Toll-like receptor (TLR7/TLR9)*, *Isocitrate dehydrogenase [NADP] cytoplasmic*, *Arachidonate 15-lipoxygenase*, *Arachidonate 12-lipoxygenase*, *Fatty acid synthase*, *Histone acetyltransferase p300* dan *Monoamine oxidase B*.

4. Pembahasan

4.1. Sifat Fisika Kimia

Prediksi sifat fisika kimia dari senyawa yang diuji dapat dilihat di Tabel 1. *Boiling point* (titik didih) adalah suhu dimana tekanan uap cairan sama dengan tekanan keseluruhan yang dialami oleh cairan.⁵ Cairan dikatakan telah mendidih jika dihasilkan uap. Titik didih hasil prediksi yang rendah adalah *hydroxychavicol* dengan suhu 509,5 Kelvin (236,5°C) dan yang paling tinggi adalah *andrographolide* 1201,5 Kelvin (928,5°C). *Melting point* (titik lebur) adalah suhu di mana zat padatan berubah wujud menjadi zat cair.⁶ Senyawa dengan titik leleh terendah adalah *ethyl-P-Methoxycinnamate* 322,92 K dan yang tertinggi adalah *alpha mangostin* 914,98 K. Data titik lebur digunakan untuk mengkarakterisasi senyawa organik dan mengkonfirmasi kemurniannya, titik lebur senyawa murni selalu lebih tinggi dari titik lebur senyawa yang belum murni. Titik lebur meningkat dengan meningkatnya berat molekul. Kenaikan titik didih diikuti dengan meningkatnya ukuran molekul.⁷ Titik kritis (*Critical Temperature*) temperatur adalah suhu suatu senyawa tidak dapat berubah menjadi cair meskipun telah diberikan tekanan.⁶ Titik kritis terendah adalah senyawa *hydroxychavicol* 725,15 dan tertinggi adalah senyawa 1045,19 *alpha mangostin*. Titik kritis tekanan (*Critical Press*) adalah tekanan minimum yang harus diterapkan

Tabel 1. Analisis sifat kimia dan fisika

| | <i>Catechin</i> | <i>Curcumin</i> | <i>Andrographolide</i> | <i>Asiaticoside</i> | <i>Deoxyelephantopin</i> | <i>Ethyl methoxycinnamate</i> | <i>Hydroxychavicol</i> | <i>Alfa mangostin</i> | <i>Plumbagin</i> | <i>Piperine</i> |
|--|-----------------|-----------------|------------------------|---------------------|--------------------------|-------------------------------|------------------------|-----------------------|------------------|-----------------|
| <i>Boiling Point (K)</i> | 1049,1 | 1065,5 | 1021,5 | 1449,7 | 837,0 | 590,62 | 509,5 | 1201,2 | 719,02 | 785,09 |
| <i>Melting Point (K)</i> | 868,12 | 761,4 | 638,31 | 623,0 | 497,4 | 322,92 | 327,1 | 914,98 | 532,27 | 495,01 |
| <i>Critical Temperature (K)</i> | 964,3 | 982,7 | 964,95 | - | 958,8 | 765,22 | 725,2 | 1045,2 | 858,1 | 905,85 |
| <i>Critical Press (Bar)</i> | 68,3 | 22,5 | 18,45 | - | 969,5 | 24,65 | 41,09 | 20,16 | 42,72 | 24,36 |
| <i>Gibbs Energy (Kj/mol)</i> | -509,87 | -285,14 | -405,03 | - | -498,6 | -182,21 | 70,53 | -225,8 | -178,59 | 268,19 |
| <i>Log P</i> | 1,5 | 2,56 | 1,97 | -0,54 | 1,72 | 2,41 | 2,7 | 4,64 | 0,87 | 2,78 |
| <i>Molecular Weight (g/mol)</i> | 290,27 | 368,38 | 350,45 | 959,13 | 344,36 | 206,24 | 134,18 | 410,47 | 188,18 | 285,34 |
| <i>Molar Refractivity (cm³/mol)</i> | 74,05 | 105,79 | 94,66 | 231 | 90,51 | 60,34 | 42,24 | 120,99 | 53,97 | 85,91 |
| <i>Polar Surface Area (PSA)</i> | 110,38 | 93,06 | 86,99 | 315,21 | 78,9 | 35,53 | 20,23 | 96,22 | 54,37 | 38,77 |
| <i>pKa</i> | 16,17 | 8,863 | 16,4 | 18,796 | 13,56 | - | 9,772 | 7,544 | 6,793 | -0,13 |

Keterangan = - (Hasil Prediksi tidak ditemukan)

untuk membawa pencairan pada suhu kritis.⁶ Senyawa titik kritis tekanan terendah adalah *andrographolide* 18,45 bar dan tertinggi adalah senyawa *deoxyelephantopin* 969,5 Bar.

Energi bebas Gibbs dilambangkan dengan ΔG digunakan untuk memprediksi apakah suatu reaksi dapat berjalan secara spontan atau tidak. Nilai $\Delta G < 0$ berarti reaksi dapat berlangsung dengan spontan, $\Delta G = 0$ reaksi berlangsung dalam kesetimbangan, $\Delta G > 0$ reaksi berjalan tidak spontan.⁶ Senyawa *Hydroxychavicol* dan *piperine* memiliki nilai $\Delta G > 0$, dimana reaksi tidak berjalan spontan. Senyawa *catechin*, *curcumin*, *andrographolide*, *asiaticoside*, *deoxyelephantopin*, *ethyl-p-methoxycinnamate*, *alpha mangostin* dan *plumbagin* memiliki $\Delta G < 0$ dimana reaksi dapat berjalan dengan spontan.

Aturan Lipinski mensyaratkan calon obat yang baik adalah memiliki massa molekul

lebih kecil dari 500 g/mol, log P lebih kecil dari 5, memiliki donor hidrogen sebanyak 5, dan memiliki ikatan hidrogen sebagai akseptor sebanyak sepuluh.⁸ Senyawa *asiaticoside* tidak memenuhi kriteria Lipinski, dalam hal ini *asiaticoside* digolongkan sebagai calon obat yang tidak memenuhi syarat dari Lipinski dan tidak ada nilai prediksi *Critical Temperature (K)*, *Critical Press (Bar)* dan *Gibbs Energy (Kj/mol)*. Refraksi molar (*Molar Refractivity*) adalah ukuran polarisasi total suatu zat dalam cm³/mol yang tergantung pada suhu, indeks bias, dan tekanan.⁹

Rentang *Molar Refractivity* yaitu 42,24 sampai dengan 231 cm³/mol. *Topology Polar surface area (TPSA)* dalam kimia medisinal digunakan untuk menganalisis kemampuan obat untuk masuk ke dalam sel. Nilai TPSA untuk obat yang memiliki bioavailabilitas yang baik yaitu berada pada rentang 20-130 Å².¹⁰ Senyawa *asiaticoside* memiliki

Tabel 2. Analisis toksisitas dan aturan Lipinski

| | <i>Catechin</i> | <i>Curcumin</i> | <i>Andrographolide</i> | <i>Asiaticoside</i> | <i>Deoxyeleph-antopin</i> | <i>Ethyl methoxycinnamate</i> | <i>Hydroxychavicol</i> | <i>Alfa mangostin</i> | <i>Plumbagin</i> | <i>Piperine</i> |
|------------------------|-----------------|-----------------|------------------------|---------------------|---------------------------|-------------------------------|------------------------|-----------------------|------------------|--|
| Mutagen | Tidak | Tidak | Tidak | Tidak | Tidak | Tidak | Alkil-benzen | Alkil-benzen | Quinon | <i>alpha, beta-unsaturated carbonyls</i> |
| Karsinogen | Tidak | Tidak | Tidak | Tidak | Tidak | Tidak | Alkil-benzen | Alkil-benzen | Quinon | <i>1,3-Benzodioxoles</i> |
| Kriteria Lipinski rule | Iya | Iya | Iya | Tidak | Iya | Iya | Iya | Iya | Iya | Iya |
| Potensi Toxic Hazard | Tinggi | Tinggi | Tinggi | Tinggi | Tinggi | Tinggi | Rendah | Tinggi | Sedang | Tinggi |

nilai PSA 315,21. Nilai ini mengindikasikan senyawa ini sulit berpenetrasi ke dalam sel. Gugus polar menyebabkan desolvasi yang menyebabkan perpindahan dalam lingkungan air pada ekstraseluler ke membrane lipofilik, PSA dipengaruhi oleh konformasi molekul, metode ini memperhitungkan nilai dari energi minimum dari konformasi molekul.¹¹

Konstanta disosiasi asam (pKa) adalah minus logaritma basis 10, semakin kecil nilai pKanya maka semakin asam.¹² Pada senyawa *ethyl-p-methoxycinnamate* nilai prediksi pKa tidak ada karena tidak adanya atom yang mengalami ionisasi.

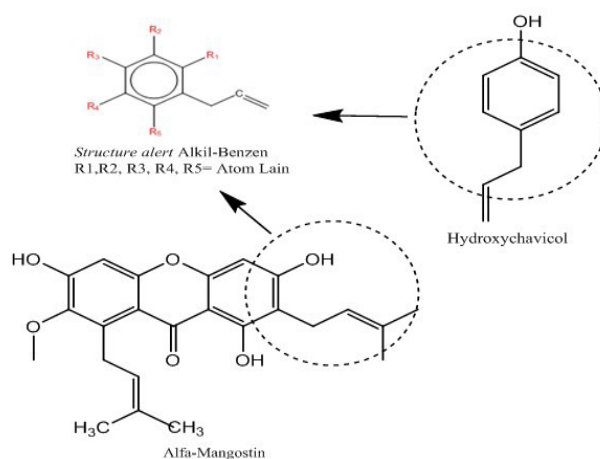
Prediksi sifat mutagen dan karsinogen dalam penelitian ini menggunakan metode *structure alert* yaitu mendeteksi struktur kimia yang mengindikasikan atau berkaitan dengan toksisitas. *Structure alerts* adalah struktur kimia yang mengindikasikan sifat toksik suatu senyawa yang menunjukkan bagian dari struktur yang mempunyai potensi mutagen, karsinogen, antimutagen dan antikarsinogen. *Structure alerts* terdiri dari struktur molekul, jenis ikatan atau gugus fungsi. Terdapat dua jenis model *structure alert* yaitu aturan berbasis manusia (*human-based rules*) dan aturan berbasis induksi (*induction based rules*).^{13,14} *Structure alert* pada senyawa *hydroxychavicol* dan *alpha mangostin* yaitu *alkil benzene* (Gambar 1). Gugus ini juga mampu menjadi agen alkilasi dan inhibitor

DNA topoisomerase II yang memiliki sifat toksik pada gugus benzen.¹⁵

Senyawa Plumbagin memiliki *structure alert* Quinon (Gambar 2). Quinon adalah gugus yang kaya elektrofil dan memiliki sifat antioksidan. Senyawa ini mudah tereduksi. Mekanisme toksik dari Quinon yaitu alkilasi dari nukleofil dan menstimulasi *oxidative stress*. Sebagai *Michael acceptors* yang merupakan penambahan nukleofilik dari karbanion. Quinon dapat menyebabkan oksidasi pada DNA dan membentuk adisi yang bersifat mutagenik dengan adenin dan guanin.¹⁶ Metabolit Quinon seperti *benzene*, hidroquinon dan p-benzoquinon, dapat menyebabkan *DNA adducts* (Ikatan DNA yang menyebabkan kanker).^{17,18}

Senyawa Quinon memiliki sifat redox, dapat berubah karena proses enzim dan non enzim. Quinon dapat membentuk *reactive oxygen species* (ROS), superoksida, hydrogen peroksida dan radikal hidroksil. Terbentuknya reaksi *reactive oxygen species* (ROS) oleh Quinon menyebabkan penurunan viabilitas, pelepasan *Lactate dehydrogenase* (LDH), kerusakan DNA, dan produksi ROS dalam sel A549.¹⁹

Piperine memiliki *structure alert* *alpha, beta-unsaturated carbonyls* mampu menyebabkan mutagen (Gambar 3). *Structure alert* α, β -unsaturated carbonyls adalah molekul reaktif *bis-electrophiles*



Gambar 1. Structure alert dari Alpha Mangostin dan Hydroxychavicol

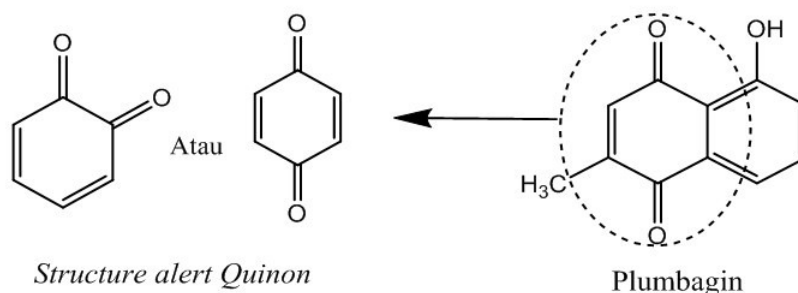
yang berinteraksi dengan elektron pada makromolekul. Karena adanya konjugasi dengan grup karbonil, β -carbon terpolarisasi dan menjadi sisi masuknya nukleofilik, termasuk dalam kategori *classic Michael type addition*.²⁰ Mekanisme genotoksik seperti pembentukan *cyclic adducts*, interaksi *frameshift*, *strand breaks*, dan ikatan silang. *Structure alert alpha, beta-unsaturated carbonyls* dapat menyebabkan epoksidasi metabolik dan pembentukan radikal.²¹

Piperine memiliki *structure alert* yang mempunyai potensi antikarsinogen yaitu *1,3-Benzodioxoles* (Gambar 4). Gugus *structure alert 1,3-Benzodioxoles* sebelumnya telah diteliti potensi *Benzodioxole* digunakan sebagai antitumor, antibakteri, antijamur, antiparasit, antimalaria, antioksidan, pestisida dan herbisida.²² Temuan ini menunjukkan adanya *1,3-Benzodioxoles* menghambat proliferasi sel kanker usus besar pada manusia.²³ Pada senyawa apiol yang memiliki

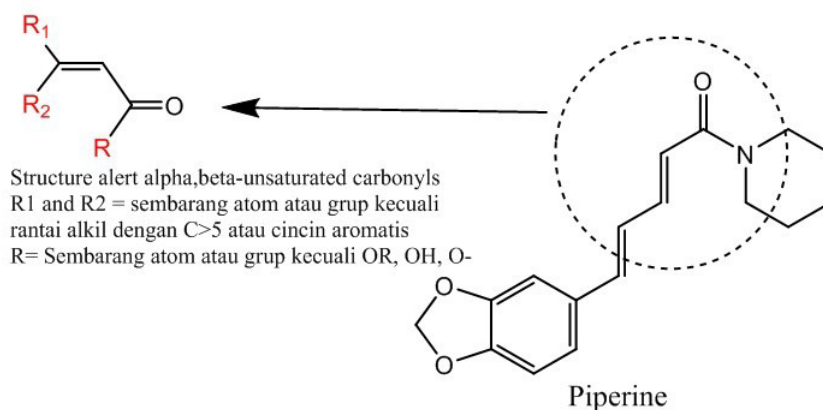
structure alert 1,3-Benzodioxoles mampu menghambat proliferasi sel kanker melalui induksi siklus sel fase G0 / G1 dan apoptosis, mengaktifasi pensinyalan p53 dalam sel kanker usus besar COLO 205. Apiole dapat digunakan sebagai pengobatan potensial dalam kanker.²⁴ Senyawa 4,7-Dimethoxy-5-methyl-1,3-benzodioxole mampu menekan *inducible nitric oxide synthase (iNOS)* dan siklooksigenase-2 (COX-2).²⁵

4.2. Potensi Toxic Hazard

Potensi hazard merupakan parameter yang memprediksi kemungkinan sifat toksik dari kandidat obat. Cramer membagi potensi *hazard* menjadi *decision tree* yang terdiri dari *hazard* tinggi, sedang dan rendah.²⁶ Potensi *Hazard* yang tinggi adalah senyawa *catechin*, *curcumin*, *andrographolide*, *asiaticoside*, *deoxyelephantopin*, *ethylmethoxycinnamate*, *alpha mangostin* dan *piperine*. *Catechin* memiliki *hazard* pada struktur *heterocyclic*.



Gambar 2. Structure alert Quinon



Gambar 3. Structure Alert alpha,beta-unsaturated carbonyls

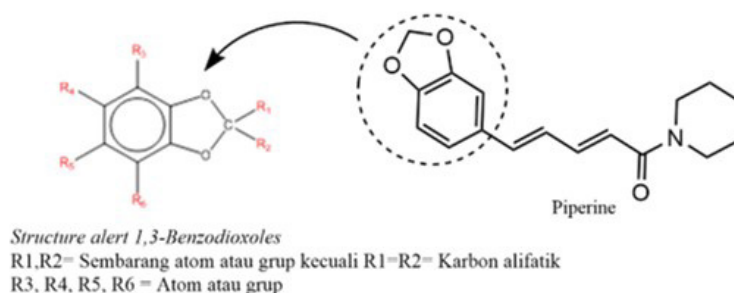
Curcumin memiliki hazard yaitu struktur *aromatic rings with substituents* dan lebih dari satu cincin aromatis. *Andrographolide* memiliki potensi hazard yaitu adanya struktur *Heterocyclic*, *Lactone* atau *cyclic diester*. *Asiaticoside* memiliki struktur *Heterocyclic*. *Deoxyelephantopin* memiliki potensi hazard karena adanya struktur *Heterocyclic*, *Lactone* atau *cyclic diester*, *Lactone*, *fused to another ring*, atau *5-or-6-membered α,β -unsaturated lactone*. *Alpha-mangostin* memiliki hazard tinggi karena memiliki struktur *Heterocyclic*. *Piperine* memiliki hazard pada bagian struktur *Heterocyclic* dan *heterocyclic ring with complex substituents*. *Ethyl methoxycinnamate* memiliki hazard pada struktur aromatik dan substituen cincin. *Plumbagin* memiliki hazard dengan katagori sedang karena memiliki struktur aromatik dan substituen cincin. *Hydroxychavicol* memiliki hazard rendah karena adanya struktur aromatik dengan substituen cincin.

4.3. Potensi Target

Potensi target dan protein yang

menjadi target spesifik dari senyawa yang diuji dapat dilihat pada Tabel 3. Senyawa *curcumin*, *Alpha mangostin*, *Plumbagin* dan *Piperine* memiliki target protein spesifik yang diprediksi menggunakan *Swiss prediction target*. Spesies yang memiliki target adalah protein target pada manusia. Kelas potensi target terdiri dari protein, enzim dan makromolekuler. Database yang digunakan adalah 224.412 molekul yang terdiri dari 1700 protein manusia.²⁷ Kelas potensi target adalah prediksi target berdasarkan database dikelompokkan berdasarkan makromolekul. Target spesifik adalah kecocokan (*probability*) 100% kemiripan dari target spesifik dari database. *Swiss prediction target* memprediksi target spesifik menggunakan data penelitian sebelumnya yang terdiri dari aktifitas spesifik seperti IC_{50} atau EC_{50} , target spesifik diperoleh dari *ligand similarity* dan identifikasi *scaffold*. Pada senyawa *andrographolide* dan *catechin* tidak ditemukan spesies dan target spesifik.

Masing-masing target spesifik yang diperoleh adalah *Monoamine oxidase A*, *Beta amyloid A4 protein*, *Histone acetyltransferase*



Gambar 4. Structure alert 1,3-Benzodioxoles

Tabel 3. Potensi Target dan Target spesifik

| No | Nama Senyawa | Spesies | Kelas Potensi Target | Target spesifik |
|----|-------------------------------|---------------------|--|---|
| 1 | <i>Catechin</i> | - | - | - |
| 2 | <i>Curcumin</i> | <i>Homo Sapiens</i> | <i>Lyase (24%), Primary active transporter 4%, Oxidoreductase 12%, Membran receptor 4%, Unclassified protein 4%, Enzyme 16%, Toll-like and il-1 Receptors, Protease 4%, Isomerase 4%, Transcription factor 4%, kinase 16%</i> | <i>Monoamine oxidase A, Beta amyloid A4 protein, Histone acetyltransferase p300, Prostaglandin E synthase, Toll-like receptor (TLR7/TLR9)</i> |
| 3 | <i>Andrographolide</i> | - | - | - |
| 4 | <i>Asiaticoside</i> | <i>Homo Sapiens</i> | <i>Enzyme 16%, Transcription factor 12%, Phosphatase 16%, Protease 4%, Ligand-gated ion channel 8%, Family A G Protein-coupled receptor 12%, Nuclear Receptor 4%, kinase 16%, Secreted Protein 4%, Oxidoreductase 4%, Other ion channel 4%</i> | - |
| 5 | <i>Deoxyelephantopin</i> | <i>Homo Sapiens</i> | <i>Enzyme 36%, Kinase 8%, Primary active transporter 4%, Transferase 4%, Phosphatase 4%, Cytochrome P450 4%, Nuclear Receptor 4%, Lyase 4%, Voltage-gated ion channel 4%, Family A G Protein-coupled receptor 4%, Oxidoreductase 8%, Phosphodiesterase 8%, Protease 4%, Hydrolase 4%</i> | - |
| 6 | <i>Ethyl methoxycinnamate</i> | <i>Homo Sapiens</i> | <i>Lyase 48%, Cytochrome P450 8%, Family C G Protein-Coupled receptor 4%, Nuclear Receptor 4%, Protease 4%, Toll-like and Il-1 receptors 4%, Kinase 12%, Enzyme 8%, Oxidoreductase 8%</i> | - |
| 7 | <i>Hydroxychavicol</i> | <i>Homo Sapiens</i> | <i>Family A G Protein-coupled receptor 16%, Lyase 8%, Nuclear Receptor 4%, Oxidoreductase 4%, Voltage-gated ion channel 8%, Transferase 4%, Structural Protein, Hydrolase 4%, Ligand-gated ion channel 12%, Eraser 16%, Cytochrome P450, Enzyme 16%</i> | - |
| 8 | <i>Alpha mangostin</i> | <i>Homo Sapiens</i> | <i>Enzyme 16%, Phosphodiesterase 4%, Protease 4%, Phosphatase 4%, Secreted Protein 4%, Family B G Protein-Coupled Receptor 4%, Unclassified Protein 4%, Other Membrane Protein 4%, Kinase 20%, Hydrolase 4%, Transcription Factor 4%, Oxidoreductase 12%, Other Cytosolic Protein 8%, Cytochrome P450 4%, Transferase 4%</i> | <i>Isocitrate dehydrogenase [NADP] cytoplasmic, Arachidonate 15-lipoxygenase, Arachidonate 12-lipoxygenase, Fatty acid synthase</i> |
| 9 | <i>Plumbagin</i> | <i>Homo Sapiens</i> | <i>Enzyme 24%, 4% Writer, Other Ion Channel 4%, Voltage-gated ion channel 4%, Adhesion 4%, Lyase 12%, Unclassified Protein 12%, Protease 12%, Oxidoreductase 12%, Kinase 8%, Phosphatase 4%</i> | <i>Histone acetyltransferase p300</i> |
| 10 | <i>Piperine</i> | <i>Homo Sapiens</i> | <i>Enzyme 32%, Ligase 4%, Membrane Receptor 4%, Oxidoreductase 4%, Phosphodiesterase 4%, Voltage-gated ion channel 12%, Kinase 20%, Protease 12%</i> | <i>Monoamine oxidase B</i> |

Keterangan = - (Hasil Prediksi tidak ditemukan)

p300, *Prostaglandin E synthase*, *Toll-like receptor (TLR7/TLR9)*, *Arachidonate 12-lipoxygenase*, *Isocitrate dehydrogenase [NADP] cytoplasmic*, *Arachidonate 15-lipoxygenase*, dan *Fatty acid synthase*. *Monoamine oxidase A* adalah produk dari dua gen yang terhubung dengan *X-Linked Gen*, dan berperan dalam metabolisme amina biogenik di sistem saraf pusat dan tepi.²⁸ *Monoamine oxidase A* dan *B* berperan terhadap penyakit yang disebabkan oleh neurotransmitter seperti gangguan mental, gangguan motorik dan saraf.²⁹ *Beta amyloid A4* protein adalah protein yang berperan dalam penyakit alzheimer.³⁰ *Histone acetyltransferase p300* memiliki kemampuan mengaktivasi ekspresigen, mengatur transkripsi DNA repressor protein yang menyebabkan penyakit leukemia.³¹ *Mikrosomal prostaglandin E synthase*, mampu menkonversi Prostaglandin H2 (PGH2) menjadi PGE2 (Prostaglandin E2), sehingga membuat peningkatan jumlah acrolein dalam fibroblast di paru-paru.³²

Toll-like receptor (TLR) berperan dalam sistem kekebalan tubuh dengan mengenali pola-pola molekuler terkait-patogen yang berasal dari berbagai mikroba. Sinyal TLR mengaktivasi faktor transkripsi *Nuclear Factor Kappa-light-chain-enhancer of activated B cells* (NF-Kb) dan *Interferon regulatory factors* (IRF), yang merangsang respon.³³ *Arachidonate 12-lipoxygenase* berperan dalam sistem penyebab aterosklerosis dan gangguan transmisi saraf.³⁴ Mutasi *Isocitrate dehydrogenase (NADP) cytoplasmic* memiliki hubungan dengan pembentukan glioma dan *non-central nervous system (CNS) malignancies*.³⁵ *Arachidonate 15-lipoxygenase* berperan dalam penyakit liver³⁶, pembengkakan pada jaringan adiposa, kanker kolektoral³⁷, dan asma.³⁸ *Fatty acid synthase* berperan dalam penyebab obesitas dan kanker.³⁹

5. Simpulan

Dari Hasil percobaan diatas, hanya senyawa *asiaticoside* yang tidak memenuhi aturan obat yang baik dari Lipinski. Senyawa *hydroxycarviol*, *alpha mangostin*, *plumbagin* dan *Piperine* memiliki potensi karsinogen

dan mutagen. Senyawa *curcumin*, *alpha mangostin*, *plumbagin* dan *piperine* memiliki target protein spesifik, dengan target spesifik yang diperoleh dapat digunakan sebagai awal penapisan virtual yang dapat dilanjutkan penambatan (*docking*) dan simulasi dinamika molekular.

Daftar Pustaka

1. Fitolab PAS. FitoPure Naturally Reference Substance. [cited 2019 Sep 14]. Available from: <https://andalasfitolab.com/home/about/>
2. Kruhlak NL, Benz RD, Zhou H, Colatsky TJ. (Q)SAR modeling and safety assessment in regulatory review. *Clin Pharmacol Ther.* 2012;91(3):529–34.
3. Idakwo G, Luttrell J, Chen M, Hong H, Zhou Z, Gong P, et al. A review on machine learning methods for in silico toxicity prediction. *J Environ Sci Heal - Part C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev.* 2018;36(4):169–91.
4. NCBI, Medicine, U.S. National Library of Information NC for B. Explore Chemistry Quickly find chemical information from authoritative sources. US National Library of Medicine National Institutes of Health Search database Search term Search. 2019 [cited 2019 Sep 10]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
5. Goldberg D. 3,000 Solved Problems In Chemistry. First Edit. McGraw-Hill; 2011. 624 p.
6. Chang R. Chemistry. 11th Edition. McGraw-Hill; 2012.
7. Sarker SD, Nahar L. Chemistry for Pharmacy Students: General, Organic, and Natural Product Chemistry. Coleraine: John Wiley & Sons Ltd; 2013. 1–383 p.
8. Lipinski CA. Lead- and drug-like compounds: The rule-of-five revolution. *Drug Discov Today Technol.* 2004;1(4):337–41.
9. Born M, Wolf E. Electromagnetic Theory of Propagation Interference and Diffraction of Light. 7th ed. Cambridge University Press; 1999.
10. Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissADME: A free web tool to evaluate

- pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci Rep.* 2017;7(March):1–13.
11. Palm K, Luthman K, Ungell AL, Strandlund G, Beigi F, Lundahl P, et al. Evaluation of dynamic polar molecular surface area as predictor of drug absorption: Comparison with other computational and experimental predictors. *J Med Chem.* 1998;41(27):5382–92.
 12. Petrucci RH, Herring FG, Madura JD, Bissonnette C. *General chemistry Principles and Modern Applications.* Eleventh E. Toronto: Pearson; 2017.
 13. Valerio LG, Cross KP. Characterization and validation of an in silico toxicology model to predict the mutagenic potential of drug impurities. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2012;260(3):209–21.
 14. Raies AB, Bajic VB. In silico toxicology: Computational methods for the prediction of chemical toxicity. *Wiley Interdiscip Rev Comput Mol Sci.* 2016;6(April):147–72.
 15. Ji Z, Zhang L, Peng V, Ren X, McHale CM, Smith MT. A comparison of the cytogenetic alterations and global DNA hypomethylation induced by the benzene metabolite, hydroquinone, with those induced by melphalan and etoposide. *Leukemia.* 2010;24(5):986–91.
 16. Yager JD. Mechanisms of estrogen carcinogenesis: The role of E2/E1-quinone metabolites suggests new approaches to preventive intervention - A review. *Steroids.* 2015;99(Part A):56–60.
 17. Loomis D, Guyton KZ, Grosse Y, El Ghissassi F, Bouvard V, Benbrahim-Tallaa L, et al. Carcinogenicity of benzene. *Lancet Oncol.* 2017;18(12):1574–5.
 18. Li J, Wang W, Moe B, Wang H, Li XF. Chemical and toxicological characterization of halobenzoquinones, an emerging class of disinfection byproducts. *Chem Res Toxicol.* 2015;28(3):306–18.
 19. Shang Y, Zhang L, Jiang Y, Li Y, Lu P. Airborne quinones induce cytotoxicity and DNA damage in human lung epithelial A549 cells: The role of reactive oxygen species. *Chemosphere.* 2014;100:42–9.
 20. Kazlauskas RJ, Bornscheuer UT. Enzyme Catalytic Promiscuity: Expanding the Catalytic Action of Enzymes to New Reactions. *Compr Chirality.* 2012;7:465–80.
 21. Eder E, Hoffman C, Bastian H, Deininger C, Scheckenbach S. Molecular mechanisms of DNA damage initiated by α,β -unsaturated carbonyl compounds as criteria for genotoxicity and mutagenicity. *Environ Health Perspect.* 1990;88:99–106.
 22. Dutta Gupta S, Rao GB, Bommaka MK, Raghavendra NM, Aleti S. Eco-sustainable synthesis and biological evaluation of 2-phenyl 1,3-benzodioxole derivatives as anticancer, DNA binding and antibacterial agents. *Arab J Chem.* 2016;9:S1875–83.
 23. Lai YY, Lien HM, Lin HW, Wang YJ, Chen LC, Yang DY, et al. Inhibition of anchorage-independent proliferation and G0/G1 cell-cycle regulation in human colorectal carcinoma cells by 4,7-dimethoxy-5-methyl-1,3-benzodioxole isolated from the fruiting body of *Antrodia camphorata*. *Evidence-based Complement Altern Med.* 2011;2011.
 24. Lai YY, Lien HM, Kuo PT, Huang CL, Kao JY, Lin H, et al. Study of the anti-proliferative activity of 5-substituted 4,7-dimethoxy-1,3-benzodioxole derivatives of sy-1 from *Antrodia camphorata* on human COLO 205 colon cancer cells. *Evidence-based Complement Altern Med.* 2011; 1-8.
 25. Shie PH, Wang SY, Lay HL, Huang GJ. 4,7-Dimethoxy-5-methyl-1,3-benzodioxole from *Antrodia camphorata* inhibits LPS-induced inflammation via suppression of NF- κ B and induction HO-1 in RAW264.7 cells. *Int Immunopharmacol.* 2016;31:186–94.
 26. Cramer GM, Ford RA, Hall RL. Estimation of toxic hazard-A decision tree approach. *Food Cosmet Toxicol.* 1976;16(3):255–76.
 27. Gfeller D, Michielin O, Zoete V. Shaping the interaction landscape of bioactive molecules. *Bioinformatics.* 2013;29(23):3073–9.

28. D'Souza UM, Craig IW. Genetic Organization of the Serotonergic System. In 2010. p. 23–50.
29. Saito M, Yamagata T, Matsumoto A, Shiba Y, Nagashima M, Taniguchi S, et al. MAOA/B deletion syndrome in male siblings with severe developmental delay and sudden loss of muscle tonus. *Brain Dev.* 2014;36(1):64–9.
30. Cai Z, Hussain MD, Yan LJ. Microglia, neuroinflammation, and beta-amyloid protein in Alzheimer's disease. *Int J Neurosci.* 2014;124(5):307–21.
31. Sunami Y, Araki M, Kan S, Ito A, Hironaka Y, Imai M, et al. Histone acetyltransferase p300/CREB-binding protein-associated factor (PCAF) is required for all-trans-retinoic acid-induced granulocytic differentiation in leukemia cells. *J Biol Chem.* 2017;292(7):2815–29.
32. Burcham PC, Thompson CA, Henry PJ. Acrolein and the lung: Chemical, molecular, and pathological aspects. *Adv Mol Toxicol.* 2010;4(C):1–36.
33. Kawasaki T, Kawai T. Toll-like receptor signaling pathways. *Front Immunol.* 2014; Sep 25;5:461.
34. Magnusson LU, Lundqvist A, Karlsson MN, Skålen K, Levin M, Wiklund O, et al. Arachidonate 15-lipoxygenase type B knockdown leads to reduced lipid accumulation and inflammation in Atherosclerosis. *PLoS One.* 2012;7(8):e43142.
35. Dimitrov L, Hong CS, Yang C, Zhuang Z, Heiss JD. New developments in the pathogenesis and therapeutic targeting of the IDH1 mutation in glioma. *Int J Med Sci.* 2015;12(3):201–13.
36. López-Vicario C, Rius B, Alcaraz-Quiles J, García-Alonso V, Lopategi A, Titos E, et al. Pro-resolving mediators produced from EPA and DHA: Overview of the pathways involved and their mechanisms in metabolic syndrome and related liver diseases. *Eur J Pharmacol.* 2016;785:133–43.
37. Cole BK, Lieb DC, Dobrian AD, Nadler JL. 12- and 15-Lipoxygenases in Adipose Tissue Inflammation. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2013;104–105:84–92.
38. Neighbour H. Mechanisms of aspirin-intolerant asthma: Identifying inflammatory pathways in the pathogenesis of asthma. *Int Arch Allergy Immunol.* 2014;163(1):1–2.
39. Balaban S, Shearer RF, Lee LS, van Geldermalsen M, Schreuder M, Shtein HC, et al. Adipocyte lipolysis links obesity to breast cancer growth: adipocyte-derived fatty acids drive breast cancer cell proliferation and migration. *Cancer Metab.* 2017;5(1).