



## Virtual Screening Kandungan Senyawa Kipas Laut (*Gorgonia mariae*) sebagai Antiasma

Faruk Jayanto Kelutur<sup>a\*</sup>, Resmi Mustarichie<sup>a</sup>, Abd. Kakhar Umar<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Jurusan Analisis Farmasi dan Kimia Medisinal, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran

<sup>b</sup>Jurusan Farmasetika dan Teknologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Jl. Raya Bandung Sumedang Km. 21, Hegarmanah, Kec. Jatinangor, Kabupaten Sumedang, Jawa Barat 45363, telp. +62227796200

\*Corresponding author: [faruk19001@mail.unpad.ac.id](mailto:faruk19001@mail.unpad.ac.id)

DOI: 10.20961/alchemy.16.2.3996.199-210

Received 15 February 2020, Accepted 28 May 2020, Published 01 September 2020

### Kata kunci:

anti-asma;  
*in silico*;  
kipas laut (*G. mariae*);  
sterol.

**ABSTRAK.** Kipas laut (*Gorgonia mariae*) telah digunakan masyarakat Maluku secara turun-temurun sebagai obat asma. Kandungan metabolit sekunder yang paling dominan dalam kipas laut adalah sterol, dimana memiliki aktivitas terapi melalui efek sinergisme antara senyawa metabolit dengan *polivalent activity*. Pengujian kipas laut sebagai anti-asma belum pernah dilaporkan sebelumnya. Oleh karena itu, perlu dilakukan *virtual screening* menggunakan metode *in silico* pada komponen sterol kipas laut sebagai tahap awal dalam menentukan efektivitas terapi anti-asma dengan memprediksi nilai ikatan energi bebas ( $\Delta G$ ), konstanta inhibisi ( $K_i$ ), dan interaksi residu asam amino menggunakan Autodock Tools 4.2 dan Discovery Studio 2016 Client®. Keamanan dan efektivitas kandidat obat dievaluasi menggunakan parameter dari Lipinski Rule of Five dan pre-ADMET. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konstanta inhibisi dan ikatan energi bebas ( $K_i$ ;  $\Delta G$ ) dari komponen senyawa kipas laut dapat diurutkan secara potensial yaitu 4,24-dimetil kolestanol (0,809; -12,40) > 24-metil-22-dehidrokolesterol (0,864; -12,36) > 23-demetil gorgosterol (1,74; -11,95) > 4,24-dimetil-22-dehidrokolestanol (1,89; -11,90). Residu asam amino yang berperan penting dalam aktivitas inhibisi hCHIT1 adalah 213-ASP. Semua komponen senyawa uji memiliki nilai log P lebih dari 5 yang menunjukkan bahwa kelarutan dan toksisitas perlu diperhatikan. Evaluasi distribusi pre-ADMET berdasarkan nilai dari pengikatan protein plasma menunjukkan bahwa senyawa uji dapat berdifusi menembus membran plasma dan berinteraksi sesuai target farmakologi. Selain itu, hasil parameter uji toksisitas menunjukkan bahwa senyawa 23-demetil gorgosterol dan 4,24-dimetil-22-dehidrokolestanol memiliki potensi sebagai anti-asma.

### Keywords:

anti-asthma;  
*in silico*;  
Gorgonians (*G. mariae*);  
sterol.

**ABSTRACT.** Virtual Screening of the Compounds in Gorgonians (*Gorgonia mariae*) as anti-asthma. The people of Maluku have used Kipas laut (*G. mariae*) for generations as an asthma medicine. The secondary metabolite that is most dominant in kipas laut is sterols, which have therapeutic activity through the synergistic effect between metabolite compounds and polyvalent activity. Anti-asthma activity of kipas laut has never been reported. Therefore, it is necessary to do virtual screening using the *in silico* method on the sterol component of kipas laut as a first step in determining the effectiveness of anti-asthma therapy by predicting the value of free energy bonds ( $\Delta G$ ), constant inhibition ( $K_i$ ), and interactions of amino acid residues using Autodock Tools 4.2 and Discovery Studio 2016 Client®. The effectiveness and safety of prospective drugs are evaluated using the Lipinski Rule of Five and pre-ADMET. The results showed that the value of inhibition constants and free energy bonds ( $K_i$ ;  $\Delta G$ ) on the compound of kipas laut that was potentially sorted was 4.24-dimethyl cholestanol (0.809; -12.40) > 24-methyl-22-dehydrocholesterol (0.864; -12.36) > 23-demethyl gorgosterol (1.74; -11.95) > 4.24-dimethyl-22-dehidrokolestanol (1.89; -11.90). The crucial residues of amino acids is 213-ASP, which play a significant role in hCHIT1 inhibitory activity. All components of the test compound have a log P value of more than five, which indicates that solubility and toxicity need to be considered. Evaluation of the pre-ADMET based on the value of plasma protein binding shows that the test compound can diffuse through the plasma membrane and interact according to pharmacological targets. In addition, the results of the toxicity test showed that 23-demethyl gorgosterol and 4.24-dimethyl-22-dehidrokolestanol compounds have potential as anti-asthma.

## PENDAHULUAN

Asma merupakan salah satu penyakit kronik radang paru-paru yang tidak menular dan heterogen dengan peradangan pada saluran pernapasan ditandai dengan riwayat mengi, sesak dada, sesak napas, dan batuk (Godfrey, 1985). Salah satu daerah di Indonesia dengan prevalensi asma yang cukup tinggi adalah Maluku khususnya Maluku Tenggara dengan persentasi 10,2% (Depkes RI, 2015). Akses dan ketersediaan obat yang masih kurang memadai pada beberapa daerah di Maluku membuat masyarakat beralih menggunakan bahan dari alam untuk mengobati penyakit asma, salah satunya adalah kipas laut (*G. mariae*) (Depkes RI, 2015).

Berdasarkan hasil penelitian, telah dilaporkan bahwa *G. mariae* memiliki komponen utama yaitu sterol yang terdiri dari kolesterol, 24-metil kolesterol, 24-metil-22-dehidrokolesterol, gorgosterol, 23-demetil gorgosterol, 4,24-dimetil dehidrokolestanol, dan 4,24-dimetil kolestanol (Kokke *et al.*, 1982). Sterol merupakan metabolit sekunder golongan steroid yang berperan penting dalam mengobati suatu penyakit melalui efek sinergisme antara senyawa metabolit sekunder dengan *polivalent activity* sehingga dimungkinkan dapat mengatasi berbagai penyakit (Rizki *et al.*, 2015). Berdasarkan hasil penelitian dari (Reo *et al.*, 2017), telah dilaporkan bahwa metabolit sekunder yang terkandung pada gorgonia (*Paramuricea clavata*) lebih banyak mengandung steroid dan terdapat pada semua fraksi dari pelarut (metanol, etil asetat, dan *n*-heksana). Steroid tersebut memiliki aktivitas sebagai anti-inflamasi agar tidak memicu terjadinya asma melalui penghambatan pelepasan sitokin interleukin-2, interleukin-4, dan interleukin-6, serta pergerakan leukosit (Okechukwu and Ekeuku, 2012). Aktivitas anti-inflamasi dari senyawa sterol pada gorgonia (*Eunicea fusca* dan *Eunicella singularis*) sangat potensial dalam mengurangi edema lebih baik dibandingkan dengan obat pembanding pada pengujian secara *in-vivo* (Marchbank *et al.*, 2012; Cooper *et al.*, 2014; Deghrigue *et al.*, 2015). Mengacu pada penelitian tersebut, *G. mariae* yang juga mengandung sterol kemungkinan memiliki potensi sebagai anti-inflamasi. Namun sejauh ini, kandungan sterol pada *G. mariae* belum pernah diuji aktivitasnya sebagai anti-inflamasi.

Penyakit saluran pernafasan yang disebabkan oleh proses inflamasi dapat terjadi melalui mekanisme yang dimodulasi oleh *chitotriosidase* (CHIT1). Penyakit yang dimodulasi oleh CHIT1 diantaranya adalah tuberkulosis, *sarcoidosis*, fibrosis pulmonari ideopatik, *scleroderma-associated interstitial lung diseases* (SSc-ILD), dan *chronic obstructive lung diseases* (COPD). Dilaporkan bahwa kenaikan kadar serum CHIT1 berkorelasi dengan konsentrasi reseptor interleukin-2, interleukin-1 $\beta$ , interleukin-8, dan TNF- $\alpha$  yang berperan penting dalam prognosis dari penyakit-penyakit tersebut (Létuvé *et al.*, 2010; Bargagli *et al.*, 2008). Berdasarkan peran CHIT1 dalam modulasi penyakit tersebut, maka CHIT1 dapat menjadi *biomarker* atau target terapi pada gangguan saluran pernafasan akibat inflamasi (Cho *et al.*, 2015). Salah satu senyawa yang memiliki aktivitas inhibisi pada CHIT1 adalah senyawa 1-(5-azanyl-4- $\sim$ {H}-1,2,4-triazol-3-yl)- $\sim$ {N}-[2-(4-bromophenyl)ethyl]- $\sim$ {N}-(2-methylpropyl) piperidin-4-amine (*native ligand*). Melalui mekanisme penghambatan reseptor *human chitotriosidase-1* (hCHIT1), *native ligand* ini menunjukkan efek anti-inflamasi yang signifikan pada dosis 30 mg/Kg p.o. (Mazur *et al.*, 2018).

*G. mariae* telah dimanfaatkan pengobatan asma secara empiris tetapi untuk pengujian aktivitas kandungan sterolnya sebagai anti-inflamasi pada terapi asma dengan target reseptor CHIT1 belum pernah dilaporkan. Maka dari itu penelitian ini dilakukan sebagai langkah awal untuk mengetahui efektivitas komponen senyawa sterol dari *G. mariae* pada reseptor hCHIT1 dengan membandingkan nilai konstanta inhibisi dan ikatan energi bebasnya pada senyawa *native ligand* serta mengevaluasi parameter *Lipinski Rule of Five* dan Pre-ADMET untuk menentukan kandidat obat yang efektif dan aman digunakan. Saat ini, pendekatan kimia komputasi (*in-silico*) digunakan untuk memaksimalkan dan memudahkan mempelajari interaksi molekul dengan reseptor, absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, serta toksisitas dari suatu penemuan bahan obat baru sebelum dilakukan pengujian secara *in-vitro* maupun *in-vivo* (Nursamsiar *et al.*, 2016).

## METODE PENELITIAN

### Material

*Software.* Operating system windows 8.1 Single Language with Bing 64-bit (6.3, build 9600), Chem3D Pro 12.0, ChemDraw Ultra 12.0, Discovery Studio 2016 Client®, AutoDock Tools 4.2, Pre-ADMET, dan *Lipinski Rule of Five*.

*Komponen Uji.* 1-(5-azanyl-4- $\sim$ {H}-1,2,4-triazol-3-yl)- $\sim$ {N}-[2-(4-bromophenyl)ethyl]- $\sim$ {N}-(2-methylpropyl) piperidin-4-amine sebagai *native ligand* dan komponen senyawa uji digunakan dari 7 senyawa kipas laut (*G. mariae*).

*Reseptor.* Data struktur reseptor kristal 3D yang digunakan untuk analisis *molecular docking* diperoleh dari *Protein Data Bank* (PDB) pada situs <http://www.rcsb.org/pdb/> dengan kode PDB ID 5NRA. Reseptor ini digunakan untuk memprediksi aktivitas anti-asma yang dinamakan reseptor *human chitotriosidase-1* (hCHIT1) (Mazur *et al.*, 2018).

## Metode

**Penyiapan Protein.** Persiapan reseptor hCHIT1 (Gambar 1) divisualisasikan menggunakan program Discovery Studio 2016 Client®. Pada program tersebut, reseptor dipreparasi dengan menghilangkan molekul air dan memisahkan *native ligand*. Hasil yang diperoleh adalah murni reseptor dan disimpan dalam format PDB (.pdb) (Wibowo *et al.*, 2019).

**Penyiapan Ligan.** *Native ligand* diperoleh setelah dipisahkan dari reseptor menggunakan Discovery Studio 2016 Client® melalui menu *scripts*, kemudian pilih *selection* lalu *selection protein chains* dan disimpan dalam format *protein data bank* (Wibowo *et al.*, 2019). Sedangkan ligan uji komponen sterol dari kipas laut (*G.maridae*) diperoleh dari situs <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> dan didownload dalam format SDF, kemudian ligan dipreparasi menggunakan program AutoDock Tools 4.2 (Morris *et al.*, 2009).

Jika ligan tidak tersedia pada website pubchem, maka ligan dibuat secara manual pada Chem3D Pro 12.0. Selanjutnya, dilakukan minimalisasi energi dengan MM2 yaitu *molecular dynamic* pada chem 3D dan disimpan dalam format (\*.pdb) (Narayanaswamy *et al.*, 2017).

**Pengaturan Paramater Grid dan Docking.** Program AutoDock Tools 4.2 digunakan untuk menentukan *grid box* pada daerah yang dikenal sebagai sisi aktif dari protein. Penentuan *grid box* ini meliputi pengaturan lokasi parameter *box* serta menentukan ukuran *grid box* menggunakan jarak (Angstrom) (Roy *et al.*, 2013). Pada protein hCHIT1 ini, hasil *grid box* yang diperoleh yaitu pusat  $x = 93,542$ ;  $y = 32,275$ ; dan  $z = 22,365$  dengan jarak titik *grid* (angstrom) adalah  $0,375 \text{ \AA}$  (Gambar 2). Selain itu, parameter *Genetic Algorithm* yang diatur hanya nilai *number of GA runs* ( $100\times$ ) yang bertujuan mencari posisi atau konformasi terbaik ketika reseptor dan ligan berikatan sedangkan selain nilai *number of GA runs* dibiarkan default (Grolmusz, 2014).

**Validasi Metode.** Paramater yang diamati pada saat validasi metode adalah nilai RMSD dari ligan *co-crystal* yang diunduh dari Protein Data Bank RSCB ( $1,27 \text{ \AA}$ ) pada sisi aktif yang dipilih (Mazur *et al.*, 2018). Kemudian dibandingkan dengan nilai RMSD hasil *redocking* ( $0,627 \text{ \AA}$ ). Hasil ini menunjukkan bahwa metode *software docking* yang digunakan valid, dimana nilai RMSD mendekati hasil ekperimental. Dengan nilai RMSD hasil *redocking* yang makin kecil tersebut, menunjukkan posisi yang makin mendekati nilai hasil kristalografi (Bissantz *et al.*, 2000; Kontoyianni *et al.*, 2004; Pratama, 2015).

**Docking Komponen Senyawa dengan Reseptor.** *Docking molecular* dilakukan dengan menggunakan *software* Autodock4 (Morris *et al.*, 2009) dengan cara yang sama seperti proses validasi menggunakan parameter *grid* dan *docking*. Kemudian hasil yang diamati berupa penentuan afinitas ligan terhadap reseptor yaitu energi bebas ikatan ( $\Delta G$ ), konstanta inhibisi ( $K_i$ ), residu asam amino, dan jumlah ikatan hidrogen (Kim and Skolnick, 2008).

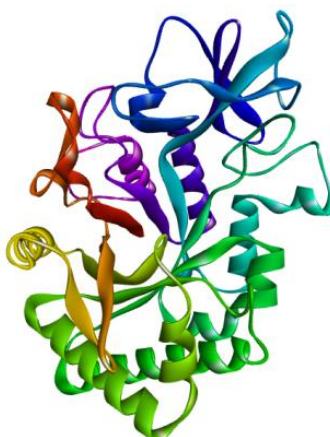
**Analisis Penambatan Molekuler dan Visualisasi.** Hasil dari kalkulasi *docking* dalam bentuk *file output* berformat notepad. Determinasi hasil konfirmasi *docking* dari komponen uji dilakukan dengan memilih konfigurasi ligan yang memiliki energi ikatan terendah (pose terbaik). Posisi dan orientasi ligan berada di makromolekul serta asam amino yang terikat pada ligan divisualisasikan menggunakan Discovery Studio 2016 Client® (Wibowo *et al.*, 2019).

**Pre-ADMET.** Parameter ADMET dikalkulasi menggunakan program preADMET® yang diakses melalui situs <http://preadmet.bmdrc.kr/adme/>. Struktur kimia dari senyawa digambarkan atau diunggah dengan format *Mol file* (\*.mol). Program ini secara otomatis menghitung nilai prediksi dari parameter-parameter yang dipilih, meliputi permeabilitas sel *Human colon adenocarcinoma* (Caco-2), *Human Intestinal Absorption* (HIA), *Plasma Protein Binding*, *mutagenic*, dan karsinogenik.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Protein dan Ligan

Pada penelitian ini, digunakan reseptor protein hCHIT1 (Gambar 1). Penelitian sebelumnya telah menguji aktivitas anti-asma dari senyawa *native ligand* menggunakan reseptor tersebut yang memiliki potensi inhibisi yang sangat baik. Parameter potensi inhibisi tersebut dilihat dari nilai  $IC_{50}$  antara *native ligand* dan reseptor CHIT1 dimana nilainya 150 kali lebih besar dan selektif terhadap CHIT1 dibandingkan senyawa uji lainnya yaitu Wyeth 1, Bisdionin F, allosamidin, argadin, dan argifin (Mazur *et al.*, 2018). Maka dari itu senyawa *native ligand* ini dijadikan sebagai pembanding.



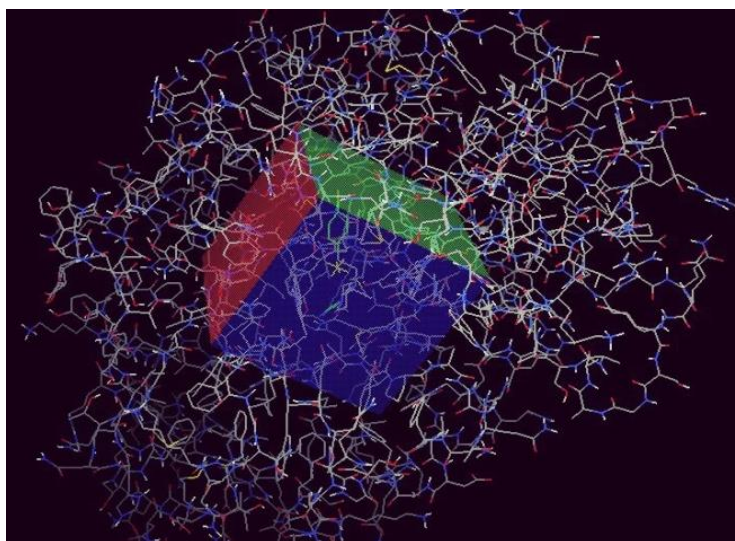
**Gambar 1.** Reseptor *chitotriosidase-1* (hCHIT1).

Kipas laut (*G. mariae*) memiliki 7 komponen senyawa uji yang digunakan untuk persiapan ligan, dimana terdiri dari kelompok kolesterol (kolesterol, 24-metil kolesterol, 24-metil-22-dehidrokolesterol), kelompok gorgosterol (gorgosterol, 23-demetil gorgosterol), dan kelompok kolestanol (4,24-dimetil-22-dehidrokolestanol dan 4,24-dimetil kolestanol) yang dioptimasi menggunakan MM2 pada Chem3D Pro 12.0 dan dipreparasi dengan AutoDock Tools 4.2 untuk penambahan muatan total Gasteiger serta hidrogen *merge* non-polar.

Minimalisasi energi bertujuan untuk meminimalkan efek sterik dari suatu senyawa sehingga konformasi tiga dimensi senyawa tersebut menjadi stabil yang mirip atau dekat dengan ikatan senyawa dan reseptor sebenarnya dalam tubuh manusia. Proses minimalisasi energi dilakukan agar hasil *docking* tetap berada pada *active site* ketika berikatan. *Active site* reseptor dipilih berdasarkan residu asam amino yang mempengaruhi fungsi atau aktivitas (Cuzzolin *et al.*, 2015). Semakin besar nilai torsi dari suatu ligan, maka semakin lama pula ligan melakukan proses *docking*. Perbedaan waktu *docking* yang berbeda tersebut dikarenakan berat molekul dari masing-masing ligan.

### Validasi Metode

Analisis yang digunakan untuk mengevaluasi hasil validasi yaitu dengan melihat nilai RMSD dan letak pengikatan. Parameter yang digunakan dianggap valid, jika nilai RMSD yang diperoleh  $\leq 2,00$  Å, artinya posisi ligan uji setelah *disuperimpose* akan semakin mirip dengan *native ligand* begitu juga pada jarak ikatan dengan reseptor yang semakin dekat sebanding dengan semakin kecilnya nilai RMSD. Selain itu, hal ini juga dipengaruhi oleh resolusi protein dan pemodelan reseptor yang digunakan (Puspaningtyas, 2013). Pada penelitian ini didapatkan nilai RMSD sebesar 0,627 Å, ini menunjukkan bahwa parameter uji memenuhi syarat untuk simulasi *docking*.



**Gambar 2.** Persiapan protein dengan Autodock4.

### Interaksi *Docking* Komponen Uji dan Visualisasi

Dalam penelitian ini, 7 senyawa yang terkandung pada *G. Marie* dan *native ligand* ditambatkan atau di-*docking* dengan reseptor *chitotriosidase-1* menggunakan *software* Autodock Tools 4.2 pada dimensi *grid box* 40×40×40. Hasil yang didapatkan adalah interaksi komponen senyawa uji dengan residu asam amino yang menunjukkan pengikatan ke sisi aktif reseptor hCHIT1 tersebut. Selain itu, diperoleh ikatan energi bebas ( $\Delta G$ ) dan konstanta inhibisi ( $K_i$ ), yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Nilai  $K_i$  menunjukkan kemampuan hambatan dari suatu senyawa terhadap reseptornya, dimana semakin kecil nilainya maka semakin kuat kekuatannya (Umamaheswari *et al.*, 2013). Nilai  $K_i$  yang dapat dilihat pada Tabel 2 menunjukkan ada 4 ligan uji yang dapat berpotensi sebagai obat asma dengan urutan dari potensi yang paling baik adalah 4,24-dimetil kolestanol > 24-metil-22-dehidrokolesterol > 23-demetil gorgosterol > 4,24-dimetil-22-dehidrokolestanol dengan nilai  $K_i$  masing-masing 0,809, 0,864, 1,74, dan 1,89. Jika dibandingkan dengan *native ligand*, senyawa 4,24-dimetil kolestanol dan 24-metil-22-dehidrokolesterol memiliki potensi hambatan yang lebih baik pada reseptor hCHIT1.

**Tabel 1.** *Docking motive* pada *native ligand* dan senyawa uji.

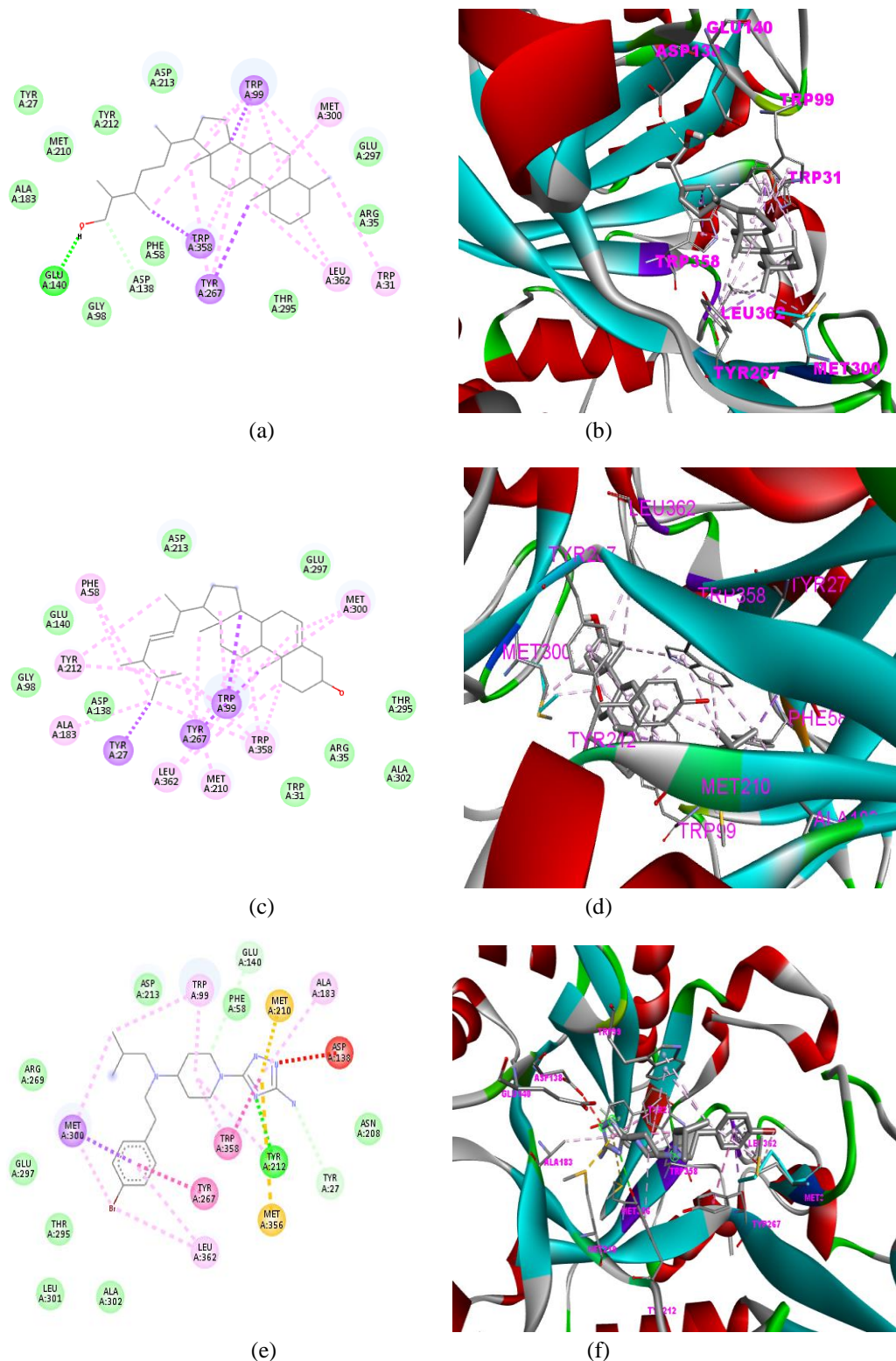
Senyawa	Interaksi dengan Residu Asam Amino		$K_i$ (nM)	$(\Delta G)$ (Kkal/mol)
	Ikatan hidrogen	Van der Waals (hidrofobik)		
<i>Native ligand</i>	212-TYR; 27-TYR 27; 140-GLU	213-ASP; 58-PHE; 269-ARG; 208-ASN ; 297-GLU ; 295-THR; 301-LEU; 302-ALA 98-GLY; 138-ASP; 58-PHE;	1,60	-12,00
Kolesterol	297-GLU; 295-THR	140-GLU; 213-ASP; 31-TRP; 362-LEU; 35-ARG 213-ASP; 140-GLU;	3,01	-11,62
24-metil kolesterol	297-GLU	98-GLY; 138-ASP; 35-ARG; 295-THR 213-ASP; 297-GLU; 140-GLU;	48,26	-9,98
24-metil-22-dehidrokolesterol	-	98-GLY; 138-ASP; 295-THR; 35-ARG; 31-TRP; 302-ALA	0,86434	-12,36

**Tabel 1.** *Docking motive* pada *native ligand*. (Lanjutan)

Senyawa	Interaksi dengan Residu Asam Amino		Ki (nM)	$(\Delta G)$ (kcal/mol)
	Ikatan hidrogen	Van der Waals (hidrofobik)		
Gorgosterol	295-THR	31-TRP; 35-ARG; 297-GLU; 213-ASP; 138-ASP; 140-GLU 213-ASP; 140-GLU; 98-GLY;	68,43	-9,77
23-demetil gorgosterol	35-ARG	138-ASP; 31-TRP; 295-THR; 297-GLU 98-GLY; 213-ASP; 138-ASP;	1,74	-11,95
4,24-dimetil-22-dehidrokolestanol	140-GLU	58-PHE; 210-MET; 31-TRP; 35-ARG; 295-THR; 297-GLU 27-TYR; 143-ALA; 210-MET; 212-TYR;	1,89	-11,90
4,24-dimetil kolestanol	140-GLU; 138-ASP	213-ASP; 98-GLY; 58-PHE; 295-THR; 35-ARG; 297-GLU	0,80987	-12,40

Nilai  $\Delta G$  menunjukkan besarnya energi yang dilepaskan oleh suatu senyawa untuk berinteraksi atau membentuk ikatan dengan reseptornya. Semakin kecil bilangannya atau semakin besar minusnya menandakan semakin banyak energi yang digunakan untuk membentuk ikatan sehingga ikatannya semakin kuat (Umamaheswari *et al.*, 2013). Berdasarkan nilai  $\Delta G$ , senyawa yang memiliki ikatan yang kuat adalah 4,24-dimetil kolestanol > 24-metil-22-dehidrokolesterol > 23-dimetil gorgosterol > 4,24-dimetil-22-dehidrokolestanol dengan nilai  $\Delta G$  masing-masing -12,40, -12,36, -11,95, dan -11,90. Jika dibandingkan dengan nilai  $\Delta G$  *native ligand*, senyawa 4,24-dimetil kolestanol dan 24-metil-22-dehidrokolesterol memiliki ikatan yang lebih baik pada reseptor hCHIT1. Sehingga dapat dikatakan bahwa senyawa 4,24-dimetil kolestanol dan 24-metil-22-dehidrokolesterol memiliki aktivitas anti-asma yang lebih potent dibandingkan *native ligand*. Berikut interaksi residu asam amino dengan ikatan hidrogen maupun Van der Waals pada senyawa 4,24-dimetil kolestanol, 24-metil-22-dehidrokolesterol, dan *native ligand* yang ditunjukkan pada Gambar 3.

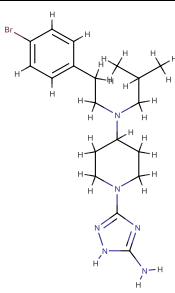
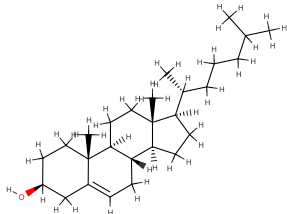
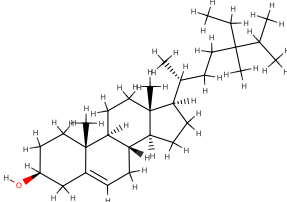
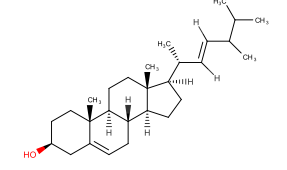
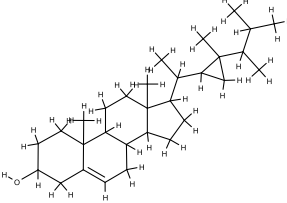
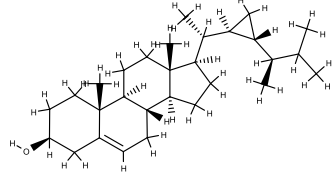
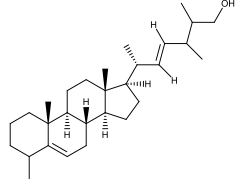
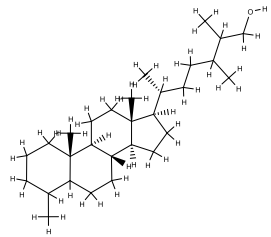




**Gambar 3.** Visualisasi hasil *docking* 4,24-dimetil kolestanol 2D (a) dan 3D (b); 24-metil-22-dehidrokolestanol 2D (c) dan 3D (d); *native ligand* 2D (e) dan 3D (f).

Pada Tabel 2 dapat dilihat bahwa struktur komponen utama sterol dari kipas laut sangat berbeda signifikan dengan *native ligand*. Walaupun struktur kimianya berbeda, tetapi memiliki interaksi residu asam amino target yang sama dengan membentuk ikatan hidrogen pada asam amino 140-GLU. Senyawa uji yang membentuk ikatan tersebut adalah 4,24-dimetil-22-dehidrokolestanol dan 4,24-dimetil kolestanol.

**Tabel 2.** Rumus molekul dan struktur ligan alami dan senyawa uji.

Senyawa	Rumus Molekul	Struktur
Native ligand	$C_{19}H_{29}BrN_6$	
Kolesterol	$C_{27}H_{46}O$	
24-metil kolesterol	$C_{28}H_{48}O$	
24-metil-22-dehidrokolesterol	$C_{28}H_{47}O$	
Gorgosterol	$C_{30}H_{50}O$	
23-demetil gorgosterol	$C_{29}H_{48}O$	
4,24-dimetil-22-dehidrokolestanol	$C_{29}H_{50}O$	
4,24-dimetil kolestanol	$C_{29}H_{52}O$	



Selain itu, ikatan Van der Waals antara senyawa uji dan *native ligand* terhadap reseptor itu juga terjadi pada residu asam amino yang sama. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa agar suatu senyawa memiliki daya inhibisi terhadap reseptor hCHIT1 tersebut, maka perlu membentuk ikatan baik hidrogen ataupun Van der Waals pada residu asam amino 140-GLU, 213-ASP, 58-PHE, 297-GLU, 295-THR, 302-ALA. Diantara residu asam amino tersebut, 213-ASP merupakan residu asam amino yang paling *crusial* dalam aktivitas inhibisi hCHIT1 (Mazur *et al.*, 2018).

### Prediksi Kelarutan Dan Permeabilitas Dengan Kaidah Lipinski

Kelarutan dan permeabilitas dari suatu senyawa berperan penting dalam mempertimbangkan pengembangan obat lebih lanjut. Hal ini dilakukan untuk mencegah kegagalan dari suatu obat yang disebabkan oleh rendahnya absorpsi atau permeasi (Nursamsiar *et al.*, 2016). Berdasarkan kaidah Lipinski dalam pengembangan dan penemuan suatu kandidat bahan obat yang digunakan secara oral, maka harus memenuhi lima syarat yang dikenal dengan “*Rule of Five*” meliputi berat molekul tidak lebih dari 500 dalton, memiliki lipofilisitas yang tinggi (dinyatakan dengan log P tidak lebih dari 5), donor ikatan hidrogen tidak lebih dari 5, akseptor ikatan hidrogen tidak lebih dari 10 serta refraktivitas molar harus diantara 40 – 130 (Lipinski, 2004) dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Hasil *screening* senyawa berdasarkan *Lipinski Rule of Five*.

Senyawa	BM	Log P	Donor Hidrogen	Akseptor Hidrogen	Refraktivitas Molar	Ket.
<i>Native ligand</i>	391	0,071	0	6	89,551	Memenuhi
Kolesterol	386	7,389	1	1	119,053	Tidak memenuhi
24-metil kolesterol	400	7,635	1	1	123,599	Tidak memenuhi
24-metil-22-dehidrokolesterol	398	7,411	1	1	123,506	Tidak memenuhi
Gorgosterol	426	7,881	1	1	130,580	Tidak memenuhi
23-demetil gorgosterol	412	7,491	1	1	125,963	Tidak memenuhi
4,24-dimetil-22-dehidrokolestanol	412	7,658	1	1	128,075	Tidak memenuhi
4,24-dimetil kolestanol	416	7,962	1	1	128,193	Tidak memenuhi

Bobot molekul yang melebihi 500 dalton akan sulit berpenetrasi melewati membran baik pada kulit ataupun pencernaan (Bos *and* Meinardi, 2000). Berdasarkan Tabel 3 dapat dilihat bahwa semua ligan uji memenuhi syarat batas berat molekul. Namun, agar dapat digunakan secara oral, obat sebaiknya memiliki nilai log P lebih dari 1 dan kurang dari 5 (Gao *et al.*, 2017). Sehingga dapat dikatakan bahwa semua ligan uji tidak cocok diberikan atau perlu modifikasi untuk penggunaan secara oral. Nilai log P yang lebih dari 5 juga berpotensi untuk memberi efek toksik karena kelarutan yang rendah dalam air sehingga sulit diekskresikan dan akan terakumulasi, mudah mengikat target yang bersifat hidrofobik dibandingkan dengan target yang seharusnya, dan sulit untuk dimetabolisme (Gao *et al.*, 2017; Hongmao, 2016).

Nilai log P berkaitan dengan lipofilisitas suatu senyawa (Rachmania *et al.*, 2015), dimana keberadaan substituen donor elektron menjadi sangat penting. Log P (logaritma koefisien partisi) dari suatu senyawa dapat dipengaruhi oleh panjangnya rantai karbon, jumlah substituen alkil (-CH<sub>3</sub>) dan substituen *lone pairs* (-OH) (Czyrski *and* Kupczyk, 2013). Seperti yang kita ketahui bahwa senyawa sterol termasuk dalam golongan lipid yang memiliki rantai karbon alifatik dan/atau aromatik sehingga cenderung bersifat lebih non-polar atau lipofilik.

### Pre-ADMET

Dalam pengembangan suatu obat baru harus mempelajari aspek absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitasnya sebelum dilakukan uji klinik. Parameter yang dapat diprediksikan melalui *in silico* meliputi sifat farmakokinetik dan prediksi toksisitas. Parameter sifat farmakokinetik terdiri dari absorpsi [*human*

*intestinal absorbtion* (HIA) dan Caco-2] dan distribusi (pengikatan protein plasma/PPB), sedangkan untuk toksisitas melalui prediksi sifat mutagenik dan karsinogenik.

HIA merupakan persentasi obat yang terabsorpsi dari rasio ekskresi atau ekskresi kumulatif pada urin, empedu, dan feses. Sedangkan Caco-2 banyak sekali digunakan sebagai model *in-vitro* dalam memprediksi absorpsi obat pada manusia melalui barrier sel epitelial usus (O'Hagan *and* Kell, 2015). Parameter distribusi menggunakan parameter PPB karena berkaitan erat dengan kemampuan disposisi obat dalam memberikan efek (Megantara *et al.*, 2018). Hasil pre-ADMET dapat dilihat pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Hasil prediksi Pre-ADMET.

Senyawa	Absorpsi		Distribusi	Mutagenik	Karsinogenik
	HIA (%)	Caco-2 (nm sec <sup>-1</sup> )	PPB (%)		
<i>Native ligand</i>	92,016	30,359	100	+	+
Kolesterol	100	51,013	100	-	-
24-metil kolesterol	100	51,404	100	-	-
24-metil-22-dehidrokolesterol	100	51,360	100	-	+
Gorgosterol	100	50,894	100	-	+
23-demetil gorgosterol	100	50,925	100	-	-
4,24-dimetil-22-dehidrokolestanol	100	27,534	100	-	-
4,24-dimetil kolestanol	100	27,632	100	+	+

Rentang nilai % HIA yang sangat baik adalah 70 – 100%. Dapat dilihat pada Tabel 4 bahwa semua ligan uji menunjukkan absorpsi yang sangat baik melalui usus. Pada parameter Caco-2 menunjukkan obat memiliki permeabilitas yang sedang (40 – 70 nm sec<sup>-1</sup>) melalui barrier antar sel epitelial usus (Nursamsiar *et al.*, 2016). Sedangkan pada parameter distribusi diprediksikan berdasarkan nilai pengikatan protein plasma dan terlihat bahwa semua ligan uji 100% berdifusi menembus membran plasma dan berinteraksi dengan protein plasma (Nursamsiar *et al.*, 2016). Hasil uji toksisitas menunjukkan *native ligand* dan senyawa 4,24-dimetil kolestanol bersifat mutagenik. Sedangkan senyawa yang berpotensi bersifat karsinogenik adalah *native ligand*, 24-metil-22-dehidrokolesterol, gorgosterol, dan 4,24-dimetil kolestanol.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil *virtual screening* menggunakan pendekatan kimia komputasi dengan metode *in-silico* pada 7 komponen senyawa kipas laut (*G. mariae*) menunjukkan bahwa aktivitas anti-asma yang paling potensial terdapat pada senyawa 4,24-dimetil kolestanol > 24-metil-22-dehidrokolesterol > 23-demetil gorgosterol > 4,24-dimetil-22-dehidrokolestanol dengan nilai konstanta inhibisi dan ikatan energi bebas ( $K_i$ ,  $\Delta G$ ) masing-masing adalah (0,809; -12,40), (0,864; -12,36), (1,74; -11,95), dan (1,89; -11,90). Terkait *Lipinski's rule of Five* berupa nilai refraktivitas molar, bobot molekul, donor, dan akseptor hidrogen pada semua ligan uji memenuhi persyaratan, kecuali pada nilai log P. Semua ligan uji memiliki nilai log P lebih dari 5 sehingga perlu perhatian lebih pada kelarutan dan toksisitasnya. Untuk evaluasi distribusi berdasarkan nilai dari pengikatan protein plasma, diprediksikan bahwa semua ligan uji dapat berdifusi menembus membran plasma dan berinteraksi sesuai target farmakologinya. Jika dilihat dari semua parameter uji termasuk toksisitasnya, senyawa 23-demetil gorgosterol dan 4,24-dimetil-22-dehidrokolestanol yang paling berpotensi sebagai anti-asma.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bargagli, E., Bianchi, N., Margollicci, M., Olivieri, C., Luddi, A., Coviello, G., Grosso, S., and Rottoli, P., 2008. Chitotriosidase and Soluble IL-2 Receptor: Comparison of Two Markers of Sarcoidosis Severity. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation* 68(6), 479–483. doi: 10.1080/00365510701854975.
- Bissantz, C., Folkers, G., and Rognan, D., 2000. Protein-Based Virtual Screening of Chemical Databases . 1 . Evaluation of Different Docking / Scoring Combinations. *Journal of Medicinal Chemistry* 43(25), 4759-4767. doi: 10.1021/jm001044.

- Bos, J.D., and Meinardi, M.M.H.M., 2000. The 500 Dalton Rule for the Skin Penetration of Chemical Compounds and Drugs. *Experimental Dermatology* 9(3), 165–169. doi: 10.1034/j.1600-0625.2000.009003165.x.
- Cho, S.J., Weiden, M.D., and Lee, C.G., 2015. Chitotriosidase in the Pathogenesis of Inflammation, Interstitial Lung Diseases and COPD. *Allergy, Asthma & Immunology Research* 7(1), 14. doi: 10.4168/aaair.2015.7.1.14.
- Cooper, E.L., Hirabayashi, K., Strychar, K.B., and Sammarco, P.W., 2014. Corals and Their Potential Applications to Integrative Medicine. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2014, 1–9. doi: 10.1155/2014/184959.
- Cuzzolin, A., Sturlese, M., Malvacio, I., Ciancetta, A., and Moro, S., 2015. DockBench: an Integrated Informatic Platform Bridging the Gap between the Robust Validation of Docking Protocols and Virtual Screening Simulations. *Molecules* 20(6), 9977–9993. doi: 10.3390/molecules20069977.
- Czyrski, A. and Kupczyk, B., 2013. The Determination of Partition Coefficient of 6-Mercaptopurine Derivatives by Thin Layer Chromatography. *Journal of Chemistry*, 2013, 1-4. doi: 10.1155/2013/419194.
- Deghrigue, M., Festa, C., Ghribi, L., Auria, M.V.D., De, S., Jannet, H.B., and Bouraoui, A., 2015. Anti-Inflammatory and Analgesic Activities with Gastroprotective Effect of Semi-Purified Fractions and Isolation of Pure Compounds from Mediterranean Gorgonian Eunicella Singularis. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 8(8), 606-611. doi: 10.1016/j.apjtm.2015.07.019.
- Depkes RI, 2015. *Profil Kesehatan Provinsi Maluku*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Gao, Y., Gesenberg, C., and Zheng, W., 2017. *Developing Solid Oral Dosage Forms Pharmaceutical Theory and Practice*, second ed. Academic Press. Cambridge (Chapter 17). doi: 10.1016/B978-0-12-802447-8.00017-0.
- Godfrey, S., 1985. What Is Asthma? *Archives of Disease in Childhood* 60(11): 997–1000. doi: 10.1136/ad.60.11.997.
- Grolmusz, V. 2014. Evaluating Genetic Algorithms in Protein-Ligand Evaluating Genetic Algorithms in Protein-Ligand Docking. *Journal of Medicinal Chemistry* 51(12), 3499-3506. doi: 10.1007/978-3-540-79450-9.
- Hongmao, S., 2016. *A Practical Guide to Rational Drug Design*. Elsevier. Cambridge (Chapter 6). doi: 10.1016/B978-0-08-100098-4.00006-5.
- Kim, R., and Skolnick, J., 2008. Assessment of Programs for Ligand Binding Affinity Prediction. *Journal of Computational Chemistry* 29(8), 1316-1331. doi: 10.1002/jcc.20893.
- Kokke, W.C.M.C., Bohlin, L., Fenical, W., and Djerassi, C., 1982. Novel Dinoflagellate 4 $\alpha$ -Methylated Sterols from Four Caribbean Gorgonians. *Journal of Phytochemistry* 21(4), 881–887. doi: 10.1016/0031-9422(82)80085-X.
- Kontoyianni, M., McClellan, L.M., and Sokol, G.S., 2004. Evaluation of Docking Performance : Comparative Data on Docking Algorithms. *Journal of Medicinal Chemistry* 47(3), 558-565. doi: 10.1021/jm0302997.
- Létuvé, S., Kozhich, A., Humbles, A., Brewah, Y., Dombret, M.-C., Grandsaigne, M., Adle, H., Kolbeck, R., Aubier, M., Coyle, A.J., and Pretolani, M., 2010. Lung Chitinolytic Activity and Chitotriosidase Are Elevated in Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Contribute to Lung Inflammation. *The American Journal of Pathology* 176(2), 638–649. doi: 10.2353/ajpath.2010.090455.
- Lipinski, C. A., 2004. Lead- and Drug-Like Compounds: The Rule-of-Five Revolution. *Drug Discovery Today: Technologies* 1(4), 337–341. doi: 10.1016/j.ddtec.2004.11.007.
- Marchbank, D.H., Berrue, F., and Kerr, R.G., 2012. Eunicidiol, an Anti-inflammatory Dilophol Diterpene from *Eunicea fusca*. *Journal of Natural Products* 75(7), 1289–1293. doi: 10.1021/np300149y.
- Mazur, M., Olczak, J., Olejniczak, S., Koralewski, R., Czestkowski, W., Jedrzejczak, A., Golab, J., Dzwonek, K., Dymek, B., Sklepkiwicz, P. L., Zagodzdon, A., Noonan, T., Mahboubi, K., Conway, B., Sheeler, R., Beckett, P., Hungerford, W. M., Podjarny, A., Mitschler, A., Siah, A. C., Fadel, F., and Golebiowski, A., 2018. Targeting Acidic Mammalian chitinase Is Effective in Animal Model of Asthma. *Journal of Medicinal Chemistry* 61(3), 695–710. doi: 10.1021/acs.jmedchem.7b01051.
- Megantara, S., Levita, J., Iwo, M.I., and Ibrahim, S., 2018. Absorption, Distribution and Toxicity Prediction of Andrographolide and Its Derivatives as Anti-HIV Drugs. *Research Journal of Chemistry and Environment* 22(Special Issue 1), 82–85.
- Morris, G.M., Huey, R., Lindstrom, W., Sanner, M.F., Belew, R.K., Goodsell, D.S., and Olson, A.J., 2009. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated Docking with Selective Receptor Flexibility. *Journal of Computational Chemistry* 30(16), 2785–2791. doi: 10.1002/jcc.21256.
- Narayanaswamy, R., Wai, L.K., and Esa, N.M., 2017. Molecular Docking Analysis of Phytic Acid and 4-

- Hydroxyisoleucine as Cyclooxygenase-2, Microsomal Prostaglandin E Synthase-2, Tyrosinase, Human Neutrophil Elastase, Matrix Metalloproteinase-2 and-9, Xanthine Oxidase, Squalene Synthase, Nitric Oxide Synthase, Human Aldose Reductase, and Lipoxygenase Inhibitors. *Pharmacognosy Magazine* 13(Suppl 3), 512–518. doi: 10.4103/pm.pm\_195\_16.
- Nursamsiar, Toding, A.T., and Awaluddin, A., 2016. Studi *In Silico* Senyawa Turunan Analog Kalkon dan Pirimidin sebagai Antiinflamasi: Prediksi Absorpsi, Distribusi, dan Toksisitas. *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)* 13(1), 92–100. doi: 10.30595/pji.v13i1.891.
- O’Hagan, S. and Kell, D.B., 2015. The Apparent Permeabilities of Caco-2 Cells to Marketed Drugs: Magnitude, and Independence from Both Biophysical Properties and Endogenite Similarities. *PeerJ* 3, e1405. doi: 10.7717/peerj.1405.
- Okechukwu, P. N. and Ekeuku, S. O., 2012. In Vivo And *In Vitro* Anti-Asthmatic Effects of Dichloromethane Crude Extract from the Leaves of *Labisia pumila*. *Global Journal of Pharmacology* 6(2), 126–130. doi: 10.5829/idosi.gjp.2012.6.2.6590.
- Pratama, M.R.F., 2015. Molecular Docking of Anticancer Agents: Artemisinin and Derivates as HER2 Inhibitor. In: *Proceedings of 1st Sari Mulia International Conference on Health and Science 2015. SMICHS 2015*, 18-19 Desember 2015, Banjarmasin. SSRN, Cambridge, pp. 1–12.
- Puspaningtyas, A.R., 2013. Molecular Docking using Molegro Virtual Docker (MVD) on Water Extract of Guavafruit (*Psidium Gajava*, Linn) and Sweet Orange (*Citrus Sinensis*, Peels) as Inhibior on Enzyme Tyrosinase as Positive Control of Whitening Agent. *Indonesian Journal of Applied Chemistry* 15(1), 31–39. doi: 10.14203/jkti.v15i1.102.
- Rachmania, R. A., Supandi, S., and Larasati, O. A., 2015. Analisis *In Silico* Senyawa Diterpenoid Lakton Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) pada Reseptor Alpha-Glukosidase sebagai Antidiabetes Tipe II. *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)* 12(2), 210–222.
- Reo, A. R., Berhimpon, S., and Montolalu, R., 2017. Metabolit Sekunder Gorgonia (*Paramuricea clavata*). *Jurnal Ilmiah Platax* 5(1), 42–48. doi: 10.35800/jip.5.1.2017.14971.
- Rizki, M.I., Chabib, L. Nabil, A. and Yusuf, B., 2015. Tanaman dengan Aktivitas Anti-Asma. *Jurnal Phamasciesnce* 2(1), 1–9. doi: 10.20527/jps.v2i1.5807.
- Roy, D., Kumar, V., Acharya, K.K., and Thirumurugan, K., 2013. Probing the Binding of Syzygium -Derived  $\alpha$  - Glucosidase Inhibitors with N- and C-Terminal Human Maltase Glucoamylase by Docking and Molecular Dynamics Simulation. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 172(1), 102–114. doi: 10.1007/s12010-013-0497-3.
- Umamaheswari, M., Madeswaran, A., and Asokkumar, K., 2013. Virtual Screening Analysis and In-vitro Xanthine Oxidase Inhibitory Activity of Some Commercially Available Flavonoids. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research : IJPR* 12(3), 317–323.
- Wibowo, S., Widyarti, S., Sabarudin, A., Soeatmadji, D.W., and Sumitro, S.B., 2019. The Role of Astaxanthin Compared with Metformin in Preventing Glycated Human Serum Albumin from Possible Unfolding: A Molecular Dynamic Study. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* 12(9), 276–282. doi: 10.22159/ajpcr.2019.v12i9.34617.