

***DOCKING DAN DINAMIKA MOLEKUL SENYAWA AKTIF DARI
TANAMAN PEGAGAN DAN RIMPANG KUNYIT PADA
ANGIOTENSIN-1 CONVERTING ENZYME SEBAGAI
ANTIHIPERTENSI SERTA PREDIKSI TOKSISITASNYA***

Laporan Tugas Akhir

**NADHIRA ZAKIYAH
11171061**



**Universitas Bhakti Kencana
Fakultas Farmasi
Program Strata I Farmasi
Bandung
2021**

LEMBAR PENGESAHAN

***DOCKING DAN DINAMIKA MOLEKUL SENYAWA AKTIF DARI
TANAMAN PEGAGAN DAN RIMPANG KUNYIT PADA
ANGIOTENSIN-1 CONVERTING ENZYME SEBAGAI
ANTIHIPERTENSI SERTA PREDIKSI TOKSISITASNYA***

Laporan Tugas Akhir

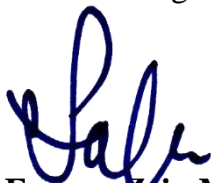
Diajukan untuk memenuhi syarat kelulusan Program Strata I Farmasi

**NADHIRA ZAKIYAH
11171061**

Bandung, 17 Juli 2021

Menyetujui,

Pembimbing Utama,



(Dr. apt. Fauzan Zein Muttaqin, M.Si)

NIDN. 0424117601

Pembimbing Serta,



(Dr. apt. Patonah, M.Si)

NIDN. 0402087302

ABSTRAK**DOCKING DAN DINAMIKA MOLEKUL SENYAWA AKTIF DARI
TANAMAN PEGAGAN DAN RIMPANG KUNYIT PADA
ANGIOTENSIN-1 CONVERTING ENZYME SEBAGAI
ANTIHIPERTENSI SERTA PREDIKSI TOKSISITASNYA****Oleh :****Nadhira Zakiyah****11171061**

Hipertensi terjadi karena peningkatan tekanan darah berkelanjutan. Salah satu obat antihipertensi yaitu captopril yang termasuk ke dalam golongan ACEI. Namun banyak efek samping yang ditimbulkan dari captopril. Tanaman pegagan (*Centella asiatica* L.) dan rimpang kunyit (*Curcuma longa* L.) diketahui memiliki efek antihipertensi. Tujuan penelitian ini untuk menentukan afinitas dan prediksi toksisitas dari 13 senyawa pada tanaman pegagan dan rimpang kunyit sebagai antihipertensi pada *Angiotensin-1 Converting Enzyme* dan memastikan golongan obat antihipertensi dari senyawa tersebut menggunakan metode *docking*, dinamika molekul dan prediksi toksisitas menggunakan Pre-ADMET. Didapatkan hasil *docking*, jika semua ligan uji memiliki nilai energi bebas ikatan (ΔG) dan konstanta inhibisi (K_i) yang lebih baik dari captopril. Hasil dinamika molekul, ligan uji 6 dan 7 memiliki kestabilan interaksi dan nilai ΔG yang lebih baik dari captopril yang masing-masing memiliki nilai -46,996 dan -48,883 kkal/mol. Parameter toksisitas yang diuji meliputi tes ames, tes karsinogenik dan toksisitas terhadap jantung. Berdasarkan hasil prediksi toksisitas, ligan uji 6 yang terdapat pada tanaman pegagan diprediksi memiliki toksisitas yang lebih rendah dibanding ligan uji lainnya.

Kata Kunci : ACEI, Captopril, *Centella asiatica* L., *Curcuma longa* L., Dinamika Molekul, *Docking*, Prediksi Toksisitas

ABSTRACT**DOCKING AND MOLECULES DYNAMIC ACTIVE COMPOUND OF
ASIATIC PENNYWORTH AND TURMERIC RHIZOME AT
ANGIOTENSIN-1 CONVERTING ENZYME AS
ANTIHYPERTENSIVE AND PREDICTION OF TOXICITY****By :****Nadhira Zakiyah****11171061**

*Hypertension is caused by a sustained increase of blood pressure. One of the antihypertensive drugs is captopril which belongs to the ACEI group. However, there are many side effects caused by captopril. Asiatic pennyworth (*Centella asiatica* L.) and turmeric rhizome (*Curcuma longa* L.) are known to have antihypertensive effects. The purpose of this study was to determine the affinity and prediction of toxicity from 13 compounds of the Asiatic pennyworth and turmeric rhizome as antihypertensive in Angiotensin-1 Converting Enzyme and to determine the antihypertensive drug class of these compounds using docking method, molecular dynamics and prediction of toxicity using Pre-ADMET. Docking results were obtained, if all of the test ligands had better bonding free energy (ΔG) and inhibition constants (K_i) than captopril. The results of molecular dynamics, test ligands 6 and 7 have better interaction stability and ΔG values than captopril which have values of -46,996 and -48.883 kcal/mol, respectively. Toxicity parameters tested include ames test, carcinogenic test and cardiac toxicity test. Based on the results of the prediction of toxicity, the test ligand 6 found in asiatic pennyworth is predicted to have lower toxicity than the other test ligands.*

*Key words : ACEI, Captopril, *Centella asiatica* L., *Curcuma longa* L., Docking, Molecular Dynamics, Prediction of toxicity*

KATA PENGANTAR



Assalamu'alaikum Warohmatullohi Wabarakatuh

Segala puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT yang maha pengasih dan penyayang serta senantiasa mencurahkan nikmat dan karunianya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan laporan tugas akhir yang berjudul “**Docking Dan Dinamika Molekul Senyawa Aktif Dari Tanaman Pegagan Dan Rimpang Kunyit Pada Angiotensin-1 Converting Enzyme Sebagai Antihipertensi Serta Prediksi Toksisitasnya**” tepat pada waktunya.

Laporan Tugas Akhir ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mengikuti sidang tugas akhir II yang merupakan syarat untuk menyelesaikan studi S1 serta untuk memperoleh gelar sarjana di jurusan Farmasi Universitas Bhakti Kencana (UBK). Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan aktivitas dari tanaman pegagan dan rimpang kunyit sebagai antihipertensi pada *Angiotensin-1 Converting Enzyme* berdasarkan afinitas, stabilitas interaksi ikatan senyawa dan prediksi toksisitas senyawa.

Penyusunan laporan tugas akhir ini tidak lepas dari dukungan serta bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dengan penuh syukur kehadiran Allah SWT dan tanpa menghilangkan rasa hormat yang mendalam, saya selaku penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah membantu penulis untuk menyelesaikan laporan tugas akhir ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Allah SWT karena atas berkat dan rahmat-Nya dapat memberikan keteguhan hati kepada saya, sehingga saya dapat semangat dalam menyusun laporan tugas akhir ini dan menyelesaikannya tepat pada waktunya.
2. Orang tua, kakak saya Nabila, adik saya Rayhan dan keluarga besar yang selalu memberikan dukungan moril, materil serta motivasi dan doanya.
3. Bapak Dr. apt. Fauzan Zein Muttaqin, M.Si sebagai pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, saran, dan nasehat dalam penelitian dan penyusunan laporan tugas akhir ini.
4. Ibu Dr. apt. Patonah, M.Si sebagai pembimbing serta yang telah memberikan bimbingan dan saran dalam penelitian dan penyusunan laporan tugas akhir ini.
5. Ryan Khunam Alamhari, S. Farm yang telah membimbing selama penulisan laporan tugas akhir ini serta selalu memberikan semangat dan motivasinya kepada saya.

6. Armida, Aisyah, Bude, Cici, Eneng, Ifel, Intan, Lili, Nova, Novia, Retno dan Teh Ama yang telah menjadi partner belajar serta selalu membantu saya dalam penyusunan ini.
7. Kang Rifqi Nur Fauzi, S. Farm sebagai kakak tingkat yang telah memberikan ilmu serta pengalamannya.
8. Rekan seperjuangan KK AFKM khususnya Kimia Medisinal yang bersama - sama berjuang.
9. Teman – teman satu angkatan yang telah memberikan dukungan dan semangat dalam menyelesaikan laporan tugas akhir ini.

Penulis menyadari bahwa laporan tugas akhir ini masih memiliki banyak kekurangan. Untuk itu penulis memohon maaf yang sebesar-besarnya atas segala kekurangan dalam penyusunannya. Penulis juga mengharapkan saran dan kritik dari semua pihak demi kesempurnaan laporan tugas akhir ini. Selain itu, penulis berharap semoga ilmu yang terdapat pada laporan tugas akhir ini dapat bermanfaat bagi peneliti selanjutnya dan dapat memberikan ilmu yang luas bagi para pembacanya.

Bandung, Juli 2021

Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK	iii
ABSTRACT	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xii
BAB I. PENDAHULUAN	1
I.1 Latar belakang.....	1
I.2 Rumusan masalah.....	2
I.3 Tujuan dan manfaat penelitian.....	2
I.4 Hipotesis penelitian.....	3
I.5 Tempat dan waktu Penelitian.....	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Hipertensi.....	4
II.1.1 Etiologi.....	5
II.1.2 Patofisiologi Hipertensi.....	5
II.1.3 Terapi Hipertensi.....	6
II.2 <i>Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors (ACEI)</i>	9
II.3 Pegagan (<i>Centella asiatica</i> (L.)).....	10
II.3.1 Morfologi.....	10
II.3.2 Aktivitas Farmakologi.....	11
II.3.3 Flavonoid.....	13
II.3.4 Triterpenoid.....	13
II.4 Kunyit (<i>Curcuma longa</i> L.).....	14
II.4.1 Morfologi.....	15
II.4.2 Aktivitas Farmakologi.....	16
II.4.3 Kurkumin.....	16
II.5 <i>Computer Aided Drug Design (CADD)</i>	17
II.6 Optimasi Geometri.....	19
II.6.1 Parameter Sifat Fisikokimia.....	19
II.6.2 <i>Density Functional Theory (DFT)</i>	20
II.7 <i>Docking</i>	20

II.7.1	Tahapan Penambatan Molekul	20
II.7.2	Validasi <i>Docking</i>	21
II.7.3	AutoDock	21
II.8	Dinamika Molekul (MD)	22
II.8.1	Tahapan Simulasi Dinamika Molekul	22
II.8.2	Parameter Simulasi Dinamika Molekul	24
II.8.3	<i>Assisted Model Building with Energy Refinement</i> (AMBER)	25
II.9	Prediksi Toksisitas	26
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN		27
BAB IV. ALAT DAN BAHAN		28
IV.1	Alat	28
IV.1.1	Perangkat Keras	28
IV.1.2	Perangkat Lunak	28
IV.2	Bahan.....	28
BAB V. PROSEDUR PENELITIAN		30
V.1	Persiapan Ligan.....	30
V.2	Persiapan Protein Target.....	30
V.3	Validasi Metode <i>Docking</i>	30
V.4	Simulasi <i>Docking</i>	30
V.5	Simulasi Dinamika Molekul	31
V.6	Prediksi Toksisitas.....	31
BAB VI. HASIL DAN PEMBAHASAN		32
VI.1	Persiapan Ligan.....	32
VI.2	Persiapan Protein Target	34
VI.3	Optimasi Geometri.....	35
VI.4	Validasi <i>Docking</i>	36
VI.5	<i>Docking</i> Ligan Uji dan Ligan Pembanding	40
VI.6	Simulasi Dinamika Molekul	41
VI.7	Prediksi Toksisitas	46
BAB VII. KESIMPULAN		49
VII.1	Kesimpulan.....	49
VII.2	Saran	49
DAFTAR PUSTAKA		50
LAMPIRAN		56

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Prevalensi Hipertensi di Indonesia Tahun 2013 dan 2018.....	5
Gambar 2.2 Patofisiologi Hipertensi.....	6
Gambar 2.3 Algoritma Peningkatan tekanan darah Tinggi.....	8
Gambar 2.4 Homolog Domain Pada Struktur ACE.....	9
Gambar 2.5 Tanaman Pegagan (<i>Centella asiatica</i> (L.)	10
Gambar 2.6 Struktur Flavonoid	13
Gambar 2.7 Struktur Triterpenoid	14
Gambar 2.8 Rimpang Kunyit	14
Gambar 2.9 Struktur Kurkumin	16
Gambar 2.10 Representasi Umum Alur Kerja Untuk CADD	17
Gambar 2.11 Layout SBDD	18
Gambar 4.1 Molekul Angiotensin-1 Converting Enzyme	28
Gambar 6.1 (a) Kompleks Angiotensin-1 Converting Enzyme (6EN5) dan (b) Ligan alami .	34
Gambar 6.2 Visualisasi tumpang tindih ligan alami hasil re-docking (kuning) dan kristalografi sinar-X (hijau).....	38
Gambar 6.3 Visualisasi interaksi <i>Angiotensin-1 converting enzyme</i> dengan ligan alami BJ2.	38
Gambar 6.4 Visualisasi Interaksi Ikatan Ligan Uji Terbaik.....	41
Gambar 6.5 Visualisasi Angiotensin-1 converting enzyme dan ligan dalam pelarut air	42
Gambar 6.6 Grafik RMSD Ligan selama 50 ns.....	44
Gambar 6.7 Grafik RMSF.....	45

DAFTAR TABEL

Tabel II.1 Klasifikasi Tekanan Darah Pada Usia \geq 18 tahun	4
Tabel II.2 Agen Antihipertensi	7
Tabel II.3 Efek Kardioprotektif dari <i>C. asiatica</i> dan Triterpenoidnya	11
Tabel II.4 Efek Antihipertensi dari <i>C. asiatica</i> dan Triterpenoidnya	11
Tabel II.5 Efek Antihiperlipidemia dari <i>C. asiatica</i> dan Triterpenoidnya	12
Tabel II.6 Efek Antihiperqlikemik dari <i>C. asiatica</i> dan Triterpenoidnya	12
Tabel II.7 Beberapa Formula Molekul dari Triterpenoid Saponin	14
Tabel II.8 Efek Farmakologi dari Tanaman Kunyit (<i>Curcuma longa</i> L.)	16
Tabel VI.1 Sifat Fisikokimia Ligan Uji	32
Tabel VI.2 HOMO, LUMO dan gap energy hasil optimasi geometri	35
Tabel VI.3 Parameter Validasi Metode Docking	37
Tabel VI.4 Interaksi reseptor <i>Angiotensin-1 converting enzyme N-domain</i>	39
Tabel VI.5 Hasil Docking Ligan Uji dan Pembandingan	40
Tabel VI.6 Pergerakan Rata-Rata Deviasi dan Rentang RMSD Hasil MD	43
Tabel VI.7 Hasil Perhitungan MMGBSA	46
Tabel VI.8 Hasil Prediksi Toksisitas	47

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Daftar Senyawa Uji Yang Digunakan	56
Lampiran 2 Pemodelan Struktur Ligan Secara 2D dan 3D	59
Lampiran 3 Visualisasi Interaksi Hasil Docking 2D dan 3D	62
Lampiran 4 Interaksi Hasil Docking Ligan Uji dan Pembanding	66
Lampiran 5 Grafik RMSD Hasil Simulasi Dinamika Molekul	71
Lampiran 6 Hasil Prediksi Tes Ames	74
Lampiran 7 Surat Pernyataan Bebas Plagiasi	75
Lampiran 8 Surat Persetujuan Untuk Dipublikasikan Di Media On Line	76

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

SINGKATAN	MAKNA
ACC	American College of Cardiology
ACE	Angiotensin Converting Enzyme
ACEI	Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors
AHA	American Heart Association
AMBER	Assisted model Building With Energy Refinement
ARB	Angiotensin Receptor Blockers
CADD	Computer Aided Drug Design
CCB	Calcium Channel Blockers
DFT	Density Functional Theory
K _i	Konstanta Inhibisi
LBDD	Ligand Based Drug Design
MD	Dinamika Molekul
MMGBSA	<i>Molecular</i> Mechanics Generalized Born Surface Area
PCR	Polymerase Chain Reaction
RMSD	Root Mean Square Deviation
RMSF	Root Mean Square Fluctuation
SBDD	Structure Based Drug Design
ΔG	Energi Bebas

BAB I. PENDAHULUAN

I.1 Latar belakang

Jenis penyakit yang terus berkembang salah satunya yaitu hipertensi atau dikenal dengan sebutan darah tinggi yang merupakan penyakit kardiovaskular (Praja *et al.*, 2018). Prevalensi hipertensi di Indonesia mengalami peningkatan, dari 25,8 % pada tahun 2013 menjadi 34,11 % pada tahun 2018 (Riskesdas, 2019). Karena populasi yang menua dan meningkatnya faktor risiko gaya hidup, termasuk pola makan yang tidak sehat dan kurangnya latihan fisik, prevalensi hipertensi meningkat secara global (Roth *et al.*, 2018).

Salah satu golongan obat untuk penyakit hipertensi yaitu *Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors* (ACEI). Mekanisme ACEI adalah menghambat perubahan angiotensin I menjadi angiotensin II, sehingga terjadi vasodilatasi, penurunan sekresi aldosteron, sekresi air dan natrium, serta terjadi retensi kalium (Praja *et al.*, 2018). Secara umum, ACEI telah ditoleransi secara luas. Namun, efek samping yang umum termasuk batuk kering, astenia, mual, diare dan gangguan ginjal. Efek tersebut dapat dikurangi dengan merancang ACEI dengan afinitas yang lebih besar ke site aktif ACE dan toksisitas yang lebih rendah. Mengingat ACEI berperan penting dalam pengendalian tekanan darah, maka fungsi target yang dimiliki dalam menghambat hipertensi (Gonzalez Amaya *et al.*, 2020).

Masyarakat telah menggunakan secara turun-temurun penggunaan obat-obatan tradisional yang berasal dari tanaman. Dimana kunyit dan pegagan termasuk kedalam tanaman yang dimanfaatkan sebagai obat-obatan tradisional tersebut. Kunyit atau *Curcuma longa* L. merupakan tumbuhan tropis di wilayah Indonesia yang banyak digunakan dalam bahan obat. Beberapa studi kimia menunjukkan komposisi yang terdapat pada tanaman kunyit yaitu senyawa kurkuminoid 60-70%, minyak atsiri 4,2-14% dan minyak lemak 4,4-12,7% yang masing-masing banyak berperan dalam aktivitas biologis (Simanjuntak, 2012).

Pegagan atau *Centella asiatica* L. merupakan salah satu jenis tanaman obat dari suku *Apiaceae*, yang bermanfaat untuk berbagai keadaan klinis (Wattanathorn *et al.*, 2008). Pada pengobatan Ayurveda, tanaman pegagan telah digunakan di berbagai daerah untuk berbagai penyakit seperti sakit kepala, nyeri tubuh, asma, kusta, dan penyembuhan luka. Terdapat penelitian yang menunjukkan bahwa kandungan terpenoid pada pegagan memiliki efek hipotensi yang lebih tinggi dan signifikan terhadap captopril (Harwoko *et al.*, 2014).

Dalam melakukan penemuan senyawa obat baru dapat menggunakan metode *in silico* yaitu penemuan senyawa secara metode komputasi. Metode ini digunakan karena lebih

meminimalisir biaya dan mengefisienkan waktu (Pranowo, 2009). Metode *in silico* yang digunakan yaitu metode *docking*, simulasi dinamika molekul dan prediksi toksisitas. Metode *docking* dilakukan untuk memperoleh senyawa terbaik hasil *docking* dengan cara memprediksikan afinitas pengikatan dan pose interaksi antara protein target dan ligan.

Dan tujuan dari simulasi dinamika molekul yaitu untuk mengamati dinamika dan kestabilan interaksi antara ligan dan protein target yang dikondisikan mendekati keadaan fisiologis tubuh dalam rentang waktu tertentu (Marlina, 2017). Serta dilakukan prediksi toksisitas untuk mengetahui sifat toksik dari senyawa uji secara *in silico*. Dalam penelitian ini dilakukan metode *docking*, simulasi dinamika molekul dan prediksi toksisitas secara *in silico* dari senyawa aktif pada tanaman pegagan dan rimpang kunyit terhadap *Angiotensin-1 Converting Enzyme* sebagai antihipertensi.

I.2 Rumusan masalah

1. Bagaimana interaksi dan afinitas senyawa aktif dari tanaman pegagan dan rimpang kunyit pada *Angiotensin-1 Converting Enzyme* sebagai antihipertensi ?
2. Bagaimana stabilitas interaksi ikatan senyawa aktif dari tanaman pegagan dan rimpang kunyit pada *Angiotensin-1 Converting Enzyme* pada keadaan yang mendekati fisiologis tubuh ?
3. Bagaimana prediksi toksisitas senyawa aktif dari tanaman pegagan dan rimpang kunyit pada *Angiotensin-1 Converting Enzyme* secara *in silico* ?

I.3 Tujuan dan manfaat penelitian

1. Menentukan interaksi dan afinitas dari senyawa aktif dari tanaman pegagan dan rimpang kunyit pada *Angiotensin-1 Converting Enzyme* sebagai antihipertensi.
2. Menentukan stabilitas interaksi ikatan senyawa aktif dari tanaman pegagan dan rimpang kunyit pada *Angiotensin-1 Converting Enzyme* pada keadaan yang mendekati fisiologis tubuh.
3. Menentukan prediksi toksisitas senyawa aktif dari tanaman pegagan dan rimpang kunyit pada *Angiotensin-1 Converting Enzyme* secara *in silico*.

I.4 Hipotesis penelitian

Senyawa golongan triterpenoid saponin dan golongan flavonoid pada tanaman pegagan dan senyawa golongan kurkuminoid pada rimpang kunyit memiliki aktivitas sebagai antihipertensi.

I.5 Tempat dan waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Aplikasi Kimia Komputasi, Fakultas Farmasi, Universitas Bhakti Kencana pada November 2020 sampai Juni 2021.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Hipertensi

Hipertensi didefinisikan sebagai peningkatan tekanan darah berkelanjutan. Menurut *American College of Cardiology/American Heart Association* (ACC / AHA) tekanan darah orang dewasa (usia ≥ 18 tahun), ada empat kategori : normal, prehipertensi, hipertensi tingkat 1, dan hipertensi tingkat 2 (Tabel II.1). Peningkatan tekanan darah bukanlah kategori penyakit, tetapi dikaitkan dengan peningkatan risiko kardiovaskular dibandingkan dengan pasien tekanan darah normal (DiPiro *et al.*, 2020).

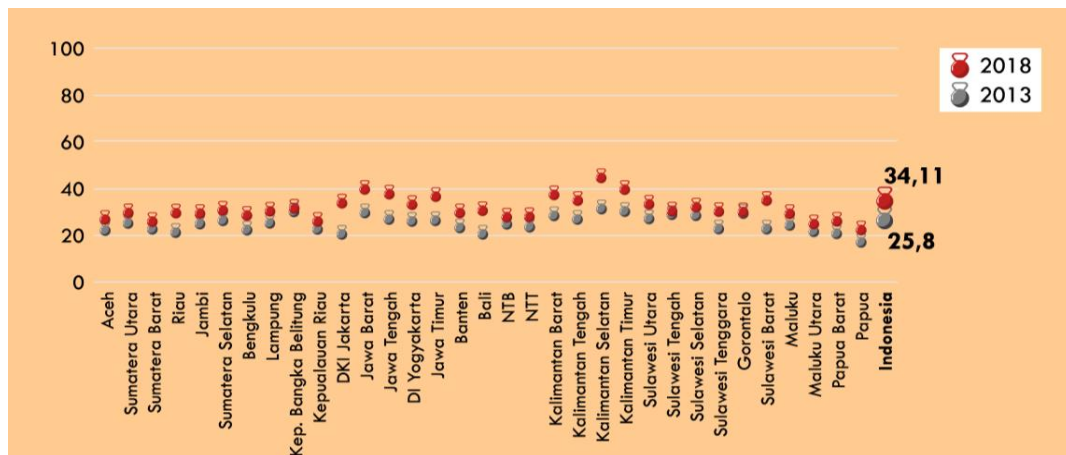
Tabel II.1 Klasifikasi Tekanan Darah Pada Usia ≥ 18 tahun

Sumber : (DiPiro *et al.*, 2020)

Klasifikasi	Tekanan Darah (mmHg)	
	Sistolik	Diastolik
Normal	<120	dan <80
Pre-hipertensi	120-129	dan 80-89
Hipertensi, tingkat 1	130-139	Atau 80-89
Hipertensi, tingkat 2	≥ 140	Atau ≥ 90

Definisi hipertensi diubah dengan pedoman ACC/AHA 2017 dari tekanan darah $\geq 140/90$ mmHg menjadi $\geq 130/80$ mmHg. Oleh karena itu, prevalensi hipertensi telah meningkat pesat. Hampir setengah (46%) orang dewasa Amerika berusia 20 tahun ke atas menderita hipertensi menurut definisi ACC / AHA. Meskipun prevalensi keseluruhan telah meningkat, hanya 1,9% yang memerlukan terapi obat tambahan karena sebagian besar pasien yang baru didiagnosis hanya memerlukan terapi nonfarmakologis. Prevalensi tekanan darah tinggi pada pria sebelum usia 65 lebih tinggi dibandingkan wanita. Namun setelah usia 74 tahun, wanita lebih banyak memiliki tekanan darah tinggi dibandingkan pria. Nilai tekanan darah meningkat seiring bertambahnya usia dan hipertensi sangat umum pada pasien yang lebih tua (DiPiro *et al.*, 2020).

Peningkatan prevalensi hipertensi terjadi hampir di seluruh provinsi di Indonesia. Provinsi DKI Jakarta memiliki peningkatan prevalensi tertinggi yaitu 13,4% dan Kalimantan Selatan 13,3%. Hasil Riskesdas tahun 2018 menunjukkan bahwa Kalimantan Selatan memiliki angka prevalensi tertinggi yaitu 44,13%, sedangkan angka prevalensi terendah yaitu Provinsi Papua yaitu 22,2% (Gambar 2.1) (Riskesdas, 2019).



Gambar 2.1 Prevalensi Hipertensi di Indonesia Tahun 2013 dan 2018

Sumber : (Riskesdas, 2019)

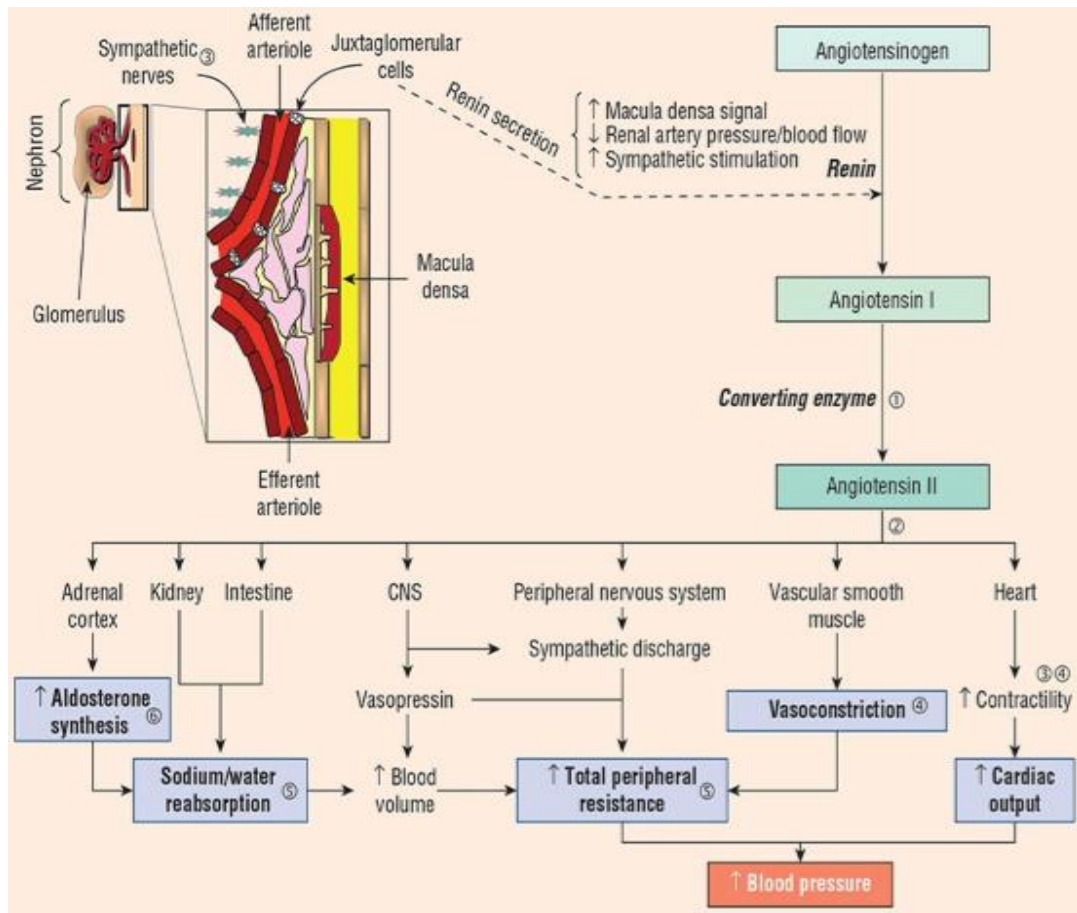
II.1.1 Etiologi

Sebagian besar individu dengan tekanan darah tinggi (lebih dari 90%) memiliki hipertensi primer atau esensial yang etiologinya tidak diketahui. Faktor genetik kemungkinan berperan dalam perkembangan hipertensi primer dengan mempengaruhi keseimbangan natrium atau jalur pengatur tekanan darah lainnya. Bentuk hipertensi ini tidak bisa disembuhkan, tetapi bisa dikontrol (DiPiro *et al.*, 2020).

Sedangkan, hipertensi sekunder lebih jarang terjadi dibandingkan hipertensi primer (hingga 10%), dimana yang bertanggung jawab untuk meningkatkan tekanan darah yaitu komorbiditas atau obat-obatan (atau produk lain). Kasus insufisiensi ginjal yang disebabkan oleh gagal ginjal kronis atau penyakit vaskular ginjal merupakan penyebab umum hipertensi sekunder. Agen tertentu (obat atau produk lain) secara langsung atau tidak langsung meningkatkan tekanan darah dan menyebabkan atau memperburuk tekanan darah. Jika teridentifikasi, hipertensi pada pasien ini dapat dikurangi atau berpotensi disembuhkan (DiPiro *et al.*, 2020).

II.1.2 Patofisiologi Hipertensi

Mekanisme peningkatan tekanan darah dimulai dengan penurunan natrium dan klorida dikirim ke tubulus distal untuk merangsang pelepasan renin (lihat Gambar 2.2). Katekolamin dapat meningkatkan pelepasan renin dengan secara langsung merangsang saraf simpatis pada arteriol aferen untuk mengaktifkan sel-sel juxtaglomerular (DiPiro *et al.*, 2020).



Gambar 2.2 Patofisiologi Hipertensi

Sumber : (DiPiro *et al.*, 2020)

Renin mengkatalis konversi angiotensinogen menjadi angiotensin I dalam darah. Kemudian angiotensin I diubah menjadi angiotensin II oleh *angiotensin converting enzyme* (ACE). Setelah mengikat reseptor tertentu (diklasifikasikan sebagai angiotensin II tipe 1 [AT₁] atau subtipe angiotensin II tipe 2 [AT₂]), angiotensin II memberikan efek biologis di berbagai jaringan. Reseptor AT₁ terletak di kelenjar adrenal, otak, ginjal, miokardium dan pembuluh darah perifer. Reseptor ini memediasi sebagian besar respon yang penting untuk fungsi kardiovaskular dan ginjal. Reseptor AT₂ yang tidak mempengaruhi pengaturan tekanan darah terletak di medula kelenjar adrenal, rahim, dan otak. Angiotensin II yang bersirkulasi meningkatkan tekanan darah dan merangsang sintesis aldosteron dari korteks adrenal dan menyebabkan reabsorpsi natrium dan air, sehingga meningkatkan volume plasma, resistensi perifer total (TPR), dan tekanan darah (DiPiro *et al.*, 2020).

II.1.3 Terapi Hipertensi

Pengkajian awal meliputi penentuan adanya faktor risiko, komorbiditas dan target kerusakan organ yang berperan sangat penting dalam menentukan pilihan obat antihipertensi. Sebelum

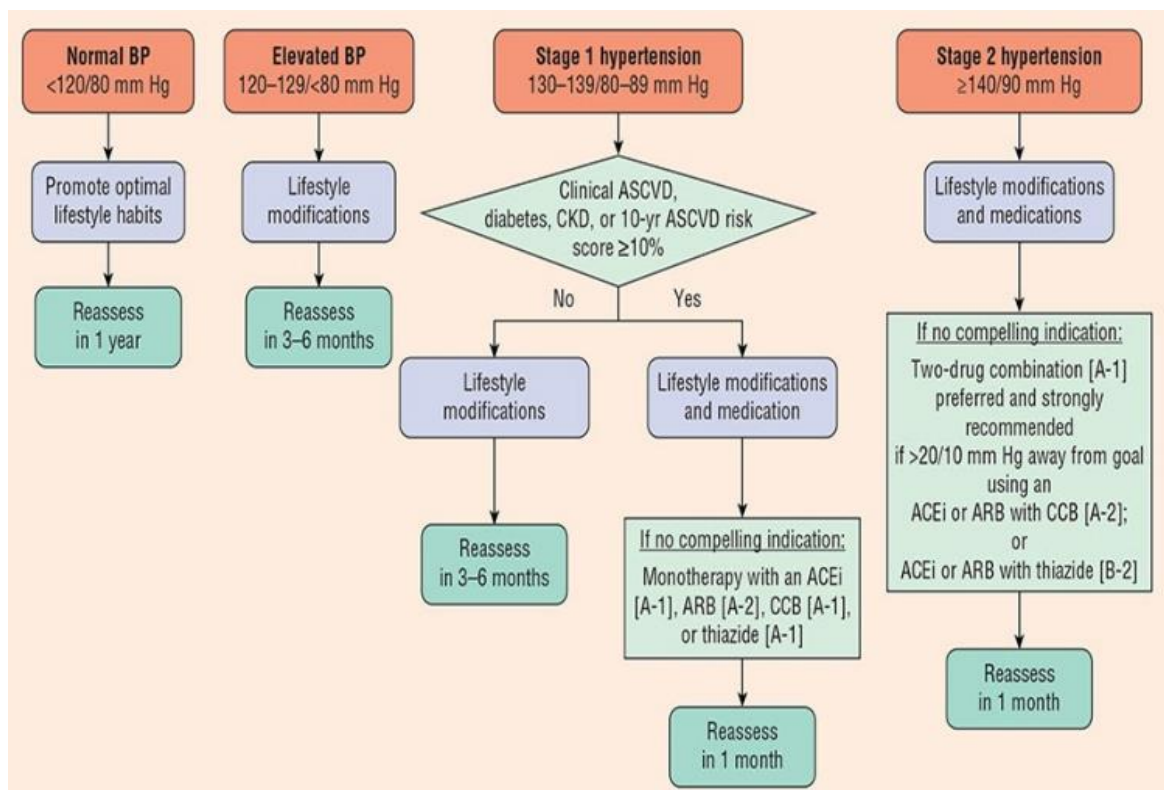
membahas terapi farmakologi, peran manajemen perubahan gaya hidup masih memegang peranan penting. Sekalipun pasien telah mengkonsumsi obat antihipertensi, perubahan gaya hidup selama periode observasi harus dilanjutkan (tekanan darah belum mencapai ambang hipertensi). Efek obat antihipertensi dapat ditingkatkan dengan perubahan gaya hidup, terutama penurunan asupan garam dan mengontrol berat badan (Kandarini, 2017).

Tabel II.2 Agen Antihipertensi

Sumber : (DiPiro *et al.*, 2020)

Kelas	Subkelas	Obat (Nama Paten)	Range Dosis (mg/day)	Frekuensi perhari
Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors (ACEI)		Benazepril (Lotensin)	10-40	1 atau 2
		Captopril (Capoten)	12,5-150	2 atau 3
		Enalapril (Vasotec)	5-40	1 atau 2
		Faosinopril (Monopril)	10-40	1
		Lisinopril (Prinivil, Zestril)	10-40	1
Angiotensin receptor blockers (ARB)		Losartan (Cozaar)	50-100	1 atau 2
		Valsartan (Diovan)	80-320	1
		Azilsartan (Edarbi)	40-80	1
		Eprosartan (Teveten)	600-800	1 atau 2
		Olmesartan (Benicar)	20-80	1
Calcium channel blockers	Dihydropy- ridine	Amlodipine (Norvase)	2.5-10	1
		Felodipine (Plendil)	5-20	1
		Nisoldipine (Sular)	10-40	1
	Nondihyd- ropyridine	Diltiazem sustained release (Cardizem CD, Cartia XT)	120-480	1
		Diltiazem extended release (Cardizem LA, Matzim LA)	180-480	1 (pagi atau malam)
Diuretic	Thiazide	Indapamide (Lozol)	1,25-2.5	1
		Metolazone (Zaroxolyn)	2,5-10	1
	Loop	Furosemid (Lasix)	20-80	2
		Torseamide (Demadex)	5-10	2
	Potassium sparing	Amiloride (Midamor)	5-10	1 atau 2
		Triamterene (Dyrenium)	50-100	1 atau 2
	Mineralocor- ticoid receptor antagonist	Eplerenone (Inspra)	50-100	1 atau 2
β -Blocker	Cardio- selective	Atenolol (Tenormin)	25-100	1 atau 2
		Bisoprolol (Zebeta)	2,5-10	1
	Nonselec- tive	Nadolol (Corgard)	40-120	1
		Propranolol (Inderal)	160-480	2

Ketika pasien hipertensi tingkat 1 gagal mencapai target tekanan darah yang dibutuhkan melalui metode non-farmakologis, maka mulai menggunakan terapi farmakologi untuk pengobatan. Sejumlah penelitian telah menunjukkan bahwa obat antihipertensi utama berasal dari kategori berikut: ACEI, *angiotensin receptor blocker* (ARB), CCB, *beta blocker* (BB) dan diuretik (Richard, J Johnson; John & Floege, 2014). Agen antihipertensi (Tabel II.2), digunakan untuk mengobati sebagian besar pasien hipertensi dari bukti yang menunjukkan penurunan tekanan darah. Beberapa obat ini memiliki subkelas yang berbeda (DiPiro *et al.*, 2020).



Gambar 2.3 Algoritma Peningkatan tekanan darah Tinggi

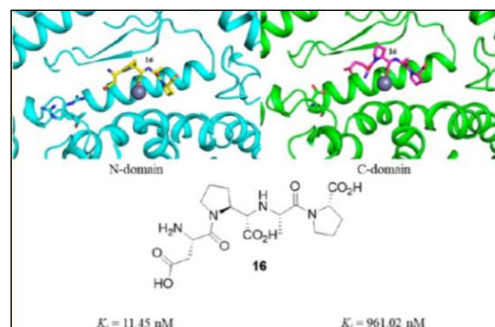
Sumber : (DiPiro *et al.*, 2020)

Jika dalam satu bulan target tekanan darah tidak tercapai setelah pengobatan, dosis awal obat dapat ditingkatkan, atau dengan menambahkan obat kedua di salah satunya (diuretik thiazide, CCB, ACEI atau ARB) (Richard, J Johnson; John & Floege, 2014). Terapi obat kombinasi, sebaiknya dengan dua obat antihipertensi lini pertama, harus dimulai sebagai terapi awal pada pasien dengan hipertensi yang baru didiagnosis dengan peningkatan tekanan darah yang lebih parah (hipertensi stage 2). Pendekatan umum untuk terapi awal diuraikan pada Gambar 2.3 (DiPiro *et al.*, 2020).

II.2 Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors (ACEI)

ACEI adalah pilihan terapi lini pertama pada kebanyakan pasien hipertensi. ACE meningkatkan produksi angiotensin II, yang berperan penting dalam mengatur tekanan darah. ACE didistribusikan di banyak jaringan dan beberapa jenis sel yang berbeda yang lokasi utamanya ada di sel endotel. Oleh karena itu, tempat utama produksi angiotensin II adalah pembuluh darah. ACEI memblokir ACE, sehingga menghambat konversi angiotensin I menjadi angiotensin II. Angiotensin II adalah vasokonstriktor yang efektif merangsang sekresi aldosteron, menyebabkan peningkatan reabsorpsi natrium dan air, disertai dengan kehilangan kalium. Dengan memblokir ACE, vasodilatasi dan aldosteron berkurang (DiPiro *et al.*, 2020).

ACEI juga menghalangi degradasi bradikinin dan merangsang sintesis vasodilator lain (prostaglandin E2 dan prostasiklin). Peningkatan bradikinin dapat meningkatkan efek penurunan tekanan darah dari ACEI, selain itu juga dapat menimbulkan efek samping batuk kering. ACEI secara efektif dapat mencegah atau mengurangi hipertrofi ventrikel kiri dengan mengurangi stimulasi langsung angiotensin II pada sel miokard. Pengobatan ACEI umumnya ditoleransi dengan baik. Efek samping yang paling mengkhawatirkan dari pengobatan ACEI adalah cedera ginjal akut namun jarang terjadi, dengan kejadian kurang dari 1% (DiPiro *et al.*, 2020).



Gambar 2.4 Homolog Domain Pada Struktur ACE

Sumber : (Fienberg *et al.*, 2018)

Angiotensin converting enzyme adalah *zinc dipeptidyl carboxypeptidase* yang memotong secara inaktif decapeptide angiotensin-I menjadi vasopressor angiotensin-II dan menurunkan vasodilator bradikinin (Fienberg *et al.*, 2018). Secara struktural ACE mengandung dua homolog domain nACE dan cACE (Gambar 2.4) yang memiliki urutan yang sama dan struktur tiga dimensi (3D) (Caballero, 2020). Kebanyakan ACEI telah terbukti menghambat kedua domain secara nonselektif, mengakibatkan efek samping seperti batuk dan angioedema (Fienberg *et al.*, 2018).

II.3 Pegagan (*Centella asiatica* (L.))



Gambar 2.5 Tanaman Pegagan (*Centella asiatica* (L.))

Sumber : (Sutardi, 2008)

Berdasarkan klasifikasi taksonomi, pegagan termasuk ke dalam :

- Divisi : Spermatophyta
- Subdivisi : Angiospermae
- Kelas : Dicotyledonae
- Ordo : Umbellales
- Famili : Umbelliferae (Apiaceae)
- Genus : *Centella*
- Spesies : *Centella asiatica* (L.) Urban atau *Hydrocotyle asiatica* Linn.

Pegagan (Gambar 2.5) termasuk dalam keluarga *Umbelliferae* (*Apiaceae*). Pegagan merupakan tumbuhan kosmopolit yang dapat ditemukan di dataran tinggi sampai dataran rendah, tempat teduh atau lahan terbuka, tanah basah atau berpasir, sehingga genotipe yang terbentuk memperkaya keragaman genetik pegagan di alam (Lasmadiwati *et al.*, 2003). Di Indonesia, pegagan mudah ditemukan di daerah pesisir yang ketinggiannya tidak melebihi 2500 mdpl (Bermawie, 2013). Pegagan memiliki kandungan seperti flavonoid, β karoten, vitamin C, polifenol, tannin dan triterpenoid seperti asam asiatik, madecassida dan asiaticosida (Rahman *et al.*, 2013)

II.3.1 Morfologi

Morfologi dari tanaman pegagan yaitu batangnya menjalar hingga mencapai satu meter, beruas dan lunak serta bentuk daunnya bulat. Panjang akar dan daun tiap tangkai daun sekitar 5-15 cm, akar berwarna putih, rimpang pendek, dan panjang batang 10-80 cm. Tinggi tanaman pegagan 5,39 - 13,3 cm dengan jumlah daun pada tanaman induk 5-8 dan jumlah

daun di cabang 2-5 (Bermawie, 2013). Biasanya terdapat 3 buah bunga, bertengger di tengah, dengan tangkai pendek di samping, 2 daun pelindung panjang 3-4 mm. Buah pegangan berbentuk pipih, lebar sekitar 7 mm dan tinggi 3 mm, berwarna kuning kecoklatan, dan berdinding cukup tebal (Direktorat Obat Asli Indonesia, 2010).

II.3.2 Aktivitas Farmakologi

1. Efek Kardioprotektif dari *Centella asiatica* (L.) dan Triterpenoidnya

Efek perlindungan dari ekstrak *C. asiatica* dan triterpenoidnya melawan hipertrofi jantung dan iskemia miokard telah dibuktikan pada beberapa studi kasus *in vitro* (Tabel II.3) (Razali *et al.*, 2019).

Tabel II.3 Efek Kardioprotektif dari *C. asiatica* dan Triterpenoidnya

Sumber : (Razali *et al.*, 2019)

Ekstrak/senyawa	Efek/mekanisme	Referensi
Asam Asiatik	Melemahkan hipertrofi miosit jantung yang diinduksi angiotensin-II dan akumulasi kolagen dalam fibroblas jantung	(Ma <i>et al.</i> , 2016)
Asam Asiatik	Meningkatkan fungsi jantung dan menghambat hipertrofi jantung dan remodeling ventrikel kiri setelah infark miokard yang diinduksi oleh ligasi arteri coroner	(Huo <i>et al.</i> , 2016)

2. Efek Antihipertensi dari *Centella asiatica* (L.) dan Triterpenoidnya

Tabel II.4 Efek Antihipertensi dari *C. asiatica* dan Triterpenoidnya

Sumber : (Razali *et al.*, 2019)

Ekstrak/senyawa	Efek/mekanisme	Referensi
Asam asiatik	Meningkatkan perubahan hemodinamik pada tikus hipertensi 2K-1C	(Maneesai <i>et al.</i> , 2017)
Asam asiatik	Mengurangi tekanan darah dengan mengurangi aktivitas berlebihan renin angiotensin, aktivitas saraf simpatis yang berlebihan dan meningkatkan fungsi vaskular pada tikus sindrom metabolik yang diinduksi diet tinggi karbohidrat dan diet tinggi lemak	(Maneesai <i>et al.</i> , 2016)

Penelitian menunjukkan kandungan terpenoid pada *C. asiatica* memiliki efek hipotensi yang lebih tinggi dan signifikan terhadap captopril (Harwoko *et al.*, 2014). Asam asiatic telah dibuktikan menunjukkan efek antihipertensi pada tikus hipertensi renovaskular 2K-1C, dimana pemberian intragastrik 30 mg/kg/hari asam asiatic selama 4 minggu menormalkan peningkatan tekanan darah arteri dan rata-rata detak jantung tikus (Tabel II.4) (Razali *et al.*, 2019).

3. Efek Antihiperlipidemia dari *Centella asiatica* (L.) dan Triterpenoidnya

Terdapat beberapa bukti studi *in vivo* yang menunjukkan sifat antihiperlipidemia dari *C. asiatica* (Tabel II.5) (Razali *et al.*, 2019).

Tabel II.5 Efek Antihiperlipidemia dari *C. asiatica* dan Triterpenoidnya

Sumber : (Razali *et al.*, 2019)

Model	Ekstrak/senyawa	Efek/mekanisme	Referensi
<i>In vivo</i>	Asam asiatic	Meningkatkan profil lipid plasma, meningkatkan aktivitas asiltransferase kolesterol lesitin dan lipoprotein lipase dan menurunkan aktivitas reduktase HMG-CoA pada tikus diabetes yang diinduksi streptozotocin	(Ramachandran <i>et al.</i> , 2014)
	Asam asiatic	Meningkatkan profil lipid plasma dan ekspresi gen dan protein yang diubah dari metabolisme enzim lipid dalam diet tinggi lemak makan tikus	(Rameshreddy <i>et al.</i> , 2018)

4. Efek Antihiperlikemik dari *C. asiatica* dan Triterpenoidnya

Sejumlah penelitian secara *in vivo* telah menunjukkan aktivitas antihiperlikemik dari *C. asiatica* (Tabel II.6) (Razali *et al.*, 2019).

Tabel II.6 Efek Antihiperlikemik dari *C. asiatica* dan Triterpenoidnya

Sumber : (Razali *et al.*, 2019)

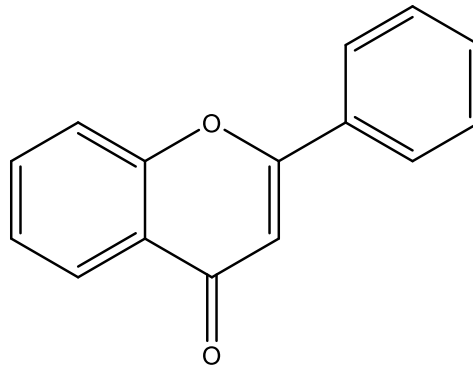
Model	Ekstrak/senyawa	Efek/mekanisme	Referensi
	Asam asiatic	Melindungi dari nefropati diabetik pada tikus melalui penghambatan stres oksidatif dan jalur pensinyalan JNK	(Chen <i>et al.</i> , 2018)
	Asam asiatic	Menormalkan plasma glukosa dan kadar insulin pada tikus diabetes yang diinduksi streptozotocin	(Ramachandran <i>et al.</i> , 2014)

5. Aktivitas Antioksidan dari Flavonoid dan Triterpenoid pada *C. asiatica*

Kandungan triterpenoid pada pegagan yaitu asiaticosida memiliki aktivitas antioksidan yang berperan dalam merevitalisasi peredaran darah ke otak menjadi lancar, melindungi sel sel otak dari kerusakan oksidatif akibat radikal bebas dan meningkatkan daya ingat (Anggraini *et al.*, 2014).

Kandungan flavonoid pada tanaman pegagan yaitu kuersetin, kaemferol dan mirisetin yang termasuk aglikon flavonol juga memiliki aktivitas antioksidan (Anggraini *et al.*, 2014). Penelitian Subban *et al.*, (2008) menemukan dua senyawa flavonoid baru dari pegagan yang memiliki aktivitas antioksidan yaitu castilliferol dan castillicetin (Subban *et al.*, 2008).

II.3.3 Flavonoid

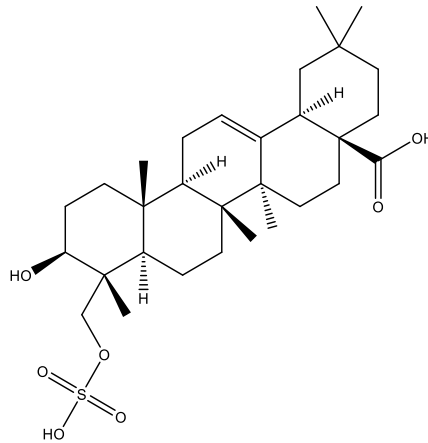


Gambar 2.6 Struktur Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang termasuk dalam golongan senyawa fenolik dengan struktur kimia C₆-C₃-C₆ (Gambar 2.6). Struktur flavonoid terdiri dari cincin aromatik A, cincin aromatik B, dan cincin tengah berupa heterosiklik yang mengandung oksigen. Flavonoid berperan sebagai antioksidan dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) dengan cara mendonasikan atom hidrogennya atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon dan melalui kemampuannya mengkhelat logam (Redha, 2010).

II.3.4 Triterpenoid

Triterpen adalah sekelompok senyawa yang tersusun dari tiga unit terpene, dengan rumus molekul C₃₀H₄₈ (Xu *et al.*, 2004). Triterpenoid (Gambar 2.7) adalah kelas terpene yang dibentuk oleh kondensasi enam unit isoprena, setara dengan tiga unit terpene dengan rumus kimia C₃₀H₄₈O₇S dan berat molekul 552,8 g/mol. Secara biosintesis berasal dari hidrokarbon asiklik C-30 (squalene), yang tidak berwarna, berbentuk kristal dan titik leleh tinggi.



Gambar 2.7 Struktur Triterpenoid

Sumber : (PubChem, 2016)

Triterpenoid dibedakan menjadi empat kategori, yaitu: triterpen sejati, saponin, steroid, dan glikosida jantung. Triterpenoid saponin adalah triterpen yang ada pada kelompok senyawa saponin, membuatnya menjadi glikosida triterpenoid (Augustin *et al.*, 2011). *C. asiatica* mengandung berbagai bahan aktif antara lain, triterpenoid saponin, triterpenoid genin, flavonoid, minyak atsiri, fitosterol, dan aktif lainnya bahan. Bahan aktif terpenting dari *C. asiatica* yaitu saponin triterpenoid. Senyawa aktif triterpenoid saponin pada *C. asiatica* meliputi asiatikosida, asam asiatik dan madecassoside (Tabel II.7) (Irham *et al.*, 2019).

Tabel II.7 Beberapa Formula Molekul dari Triterpenoid Saponin

Sumber : (Mosae Selvakumar, 2018)

Triterpenoid saponin	R1	R2	Rumus Kimia	Berat molekul
Asam Asiatik	H	OH	$C_{30}H_{48}O_5$	488
Asiatikosida	H	O-glu-glu-rham	$C_{48}H_{78}O_{19}$	958
Madecassoside	OH	O-glu-glu-rham	$C_{48}H_{78}O_{20}$	974

II.4 Kunyit (*Curcuma longa L.*)



Gambar 2.8 Rimpang Kunyit

Klasifikasi Tanaman kunyit (*Curcuma longa* L.) sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Zingiberidae
Order	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: <i>Curcuma</i> L.
Spesies	: <i>Curcuma longa</i> L.

Kunyit (Gambar 2.8) dengan nama Latin *Curcuma longa* L. merupakan tumbuhan tropis yang bentuk serbuknya disebut dengan tumerik yang banyak digunakan dalam bahan obat. Komposisi kimia di dalam tanaman kunyit terdapat senyawa kurkuminoid 60-70%, minyak atsiri 4,2-14% dan minyak lemak 4,4-12,7% (P. Simanjuntak *et al.*, 2012). Kunyit merupakan tanaman yang dapat tumbuh di lingkungan dataran rendah hingga 2.000 mdpl. Kunyit merupakan tumbuhan yang habitat aslinya meliputi Asia Tenggara. Kunyit tumbuh dengan baik di lahan yang beririgasi baik dengan curah hujan lebih banyak dan curah hujan lebih sedikit (Pangemanan *et al.*, 2016).

II.4.1 Morfologi

Batang kunyit berwarna hijau kekuningan dengan tinggi 75-100 cm memiliki batang tegak semu berbentuk bulat tersusun atas beberapa pelepah daun dan dapat menyimpan banyak air. Daun kunyit memiliki lebar 8-13 cm dan panjang 10-40 cm daun kecil bersisik (elips). Tulang daun kunyit berwarna hijau muda, berbulu dan ujung daun rata (Rahardjo & Rostiana, 2005). Bunga kunyit muncul dari rimpang memiliki panjang 16-40 cm dan tebal 2-5 mm. Kelopak lanset berukuran lebar 2-3 cm dan panjang 4-8 cm dengan bagian bawah berwarna hijau 15 cm. Rimpang kunyit tumbuh pada rimpang utama yang tumbuh menyamping secara horizontal atau membungkuk. Tunas tumbuh dalam bentuk buku-buku pendek. Panjang rimpang biasanya mencapai 20 cm dan tebal 1,5-4 cm (Pangemanan *et al.*, 2016).

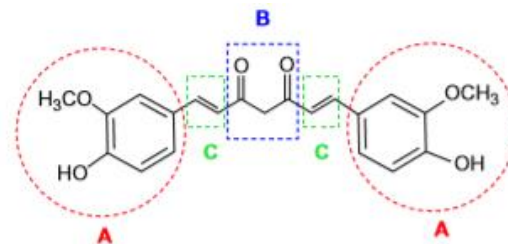
II.4.2 Aktivitas Farmakologi

Berikut adalah efek farmakologis dari tanaman kunyit (*Curcuma longa* L.) yang telah dilaporkan oleh beberapa studi ilmiah (Tabel II.8).

Tabel II.8 Efek Farmakologi dari Tanaman Kunyit (*Curcuma longa* L.)

Efek Farmakologi	Referensi
Anti-inflamasi	(Edwards <i>et al.</i> , 2017)
Anti-oksidan	(Abrahams <i>et al.</i> , 2019)
Anti-bakteri	(Yuliati, 2017)
Antihipertensi	(Vamanu <i>et al.</i> , 2019)
Antifungi	(Ungphaiboon <i>et al.</i> , 2005)
Antikanker	(Devassy <i>et al.</i> , 2015)
Antidiabetes	(Lekshmi <i>et al.</i> , 2014)

II.4.3 Kurkumin



Gambar 2.9 Struktur Kurkumin

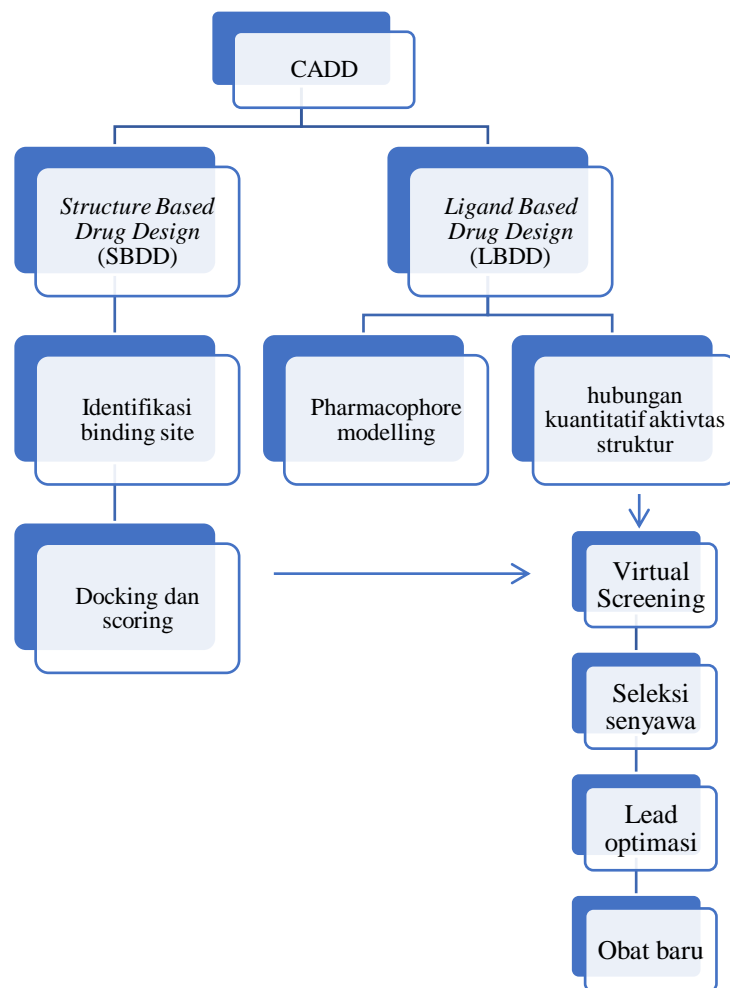
Sumber : (Wiggers *et al.*, 2017)

Kurkumin atau diferuloylmethane, 1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6 heptadien-3,5-dione merupakan polifenol alami dan penyusun utama dalam rimpang *Curcuma longa* Linn (Tumerik). Kurkumin merupakan serbuk kristal oranye-kuning, tidak larut dalam air dan eter, tetapi larut dalam etanol, dimetil sulfoksida dan aseton. Struktur molekul kurkumin tersusun dari diferuloil yang dihubungkan oleh metana dengan massa molekul 368,37 g / mol, titik lelehnya 183°C. Dua cincin aril yang mengandung gugus orto metoksi fenolik (OH-) secara simetris terkait dengan bagian diketon. Dalam pembuatan profil silico kurkumin ditentukan koefisien partisi oktanol:air-2:3, akseptor ikatan hidrogen (atom O dan N) kurkumin berjumlah 6 dan jumlah donor ikatan hidrogen (atom OH dan NH₂) dengan tidak ada pelanggaran aturan lima dari Lipinski. Struktur molekul kurkumin dibagi menjadi tiga

wilayah fungsional utama : (A) cincin aromatik, (B) β -diketon, dan (C) penghubung olefin (Gambar 2.9) (Wiggers *et al.*, 2017).

Sifat biologis yang ditunjukkan oleh kurkumin termasuk antijamur, anti-inflamasi, antioksidan, antiangiogenik, kemopreventif dan antitumor. Efek terapeutik kurkumin dikaitkan dengan aksinya pada berbagai target molekuler. Karena profil farmakodinamik yang sangat baik dan kurangnya toksisitas yang luar biasa, kurkumin dilanjutkan ke uji klinis. Namun, kurkumin memiliki beberapa keterbatasan, seperti ketidakstabilan kimia, kelarutan air yang buruk, dan metabolisme yang cepat dalam kondisi fisiologis, sehingga menghasilkan eliminasi sistemik yang cepat, yang membatasi aplikasinya sebagai obat (Wiggers *et al.*, 2017).

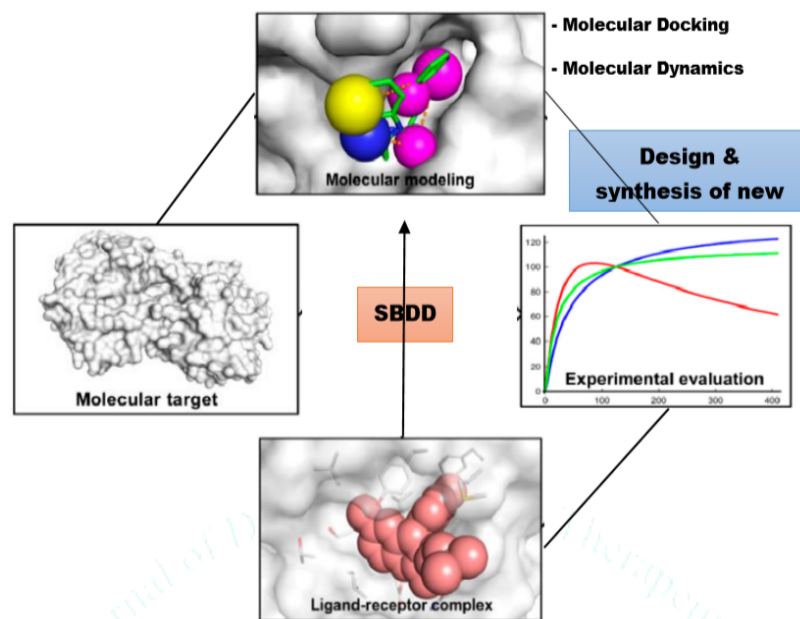
II.5 Computer Aided Drug Design (CADD)



Gambar 2.10 Representasi Umum Alur Kerja Untuk CADD

Sumber : (Surabhi & Singh, 2018)

Penemuan dan pengembangan obat baru umumnya dikenal sebagai proses yang sangat kompleks yang memakan banyak waktu dan pikiran. Sehingga untuk mengurangi waktu, biaya dan faktor risiko yang ditanggung, metode *computer aided drug design* (CADD) banyak digunakan. Dengan menggunakan pendekatan CADD kita dapat mengurangi biaya penemuan dan pengembangan obat hingga 50%. Berbagai pendekatan CADD dievaluasi sebagai teknik yang menjanjikan sesuai dengan kebutuhannya, di antara semua desain obat berbasis struktur dan pendekatan desain obat berbasis ligan dikenal sebagai teknik yang sangat efisien dan kuat dalam penemuan dan pengembangan obat. Representasi alur kerja untuk CADD terdapat pada Gambar 2.10 (Surabhi & Singh, 2018).



Gambar 2.11 *Layout SBDD*

Sumber : (Ferreira *et al.*, 2015)

Dalam SBDD, struktur protein target diketahui dan interaksi atau bio-afinitas untuk semua senyawa yang diuji dihitung setelah proses *docking*, untuk merancang molekul obat baru, yang menunjukkan interaksi yang lebih baik dengan protein target SBDD berjalan melalui beberapa siklus sebelum *lead* yang dioptimalkan mencapai uji klinis (Gambar 2.11) (Imam & Gilani, 2017). Dalam LBDD, struktur 3D dari protein target tidak diketahui tetapi pengetahuan tentang ligan yang mengikat yang diinginkan situs target diketahui. Ligan ini dapat digunakan untuk mengembangkan model atau molekul farmakofor yang memiliki semua fitur struktural yang diperlukan untuk mengikat situs aktif target. Dalam LBDD diasumsikan bahwa senyawa yang memiliki kemiripan strukturnya juga memiliki aksi dan interaksi biologis yang sama dengan protein target (Macalino *et al.*, 2015).

II.6 Optimasi Geometri

Optimasi geometri berfungsi untuk menentukan energi minimal atau terendah dari suatu molekul. Struktur dengan energi terendah dapat diinterpretasikan sebagai sistem dengan keadaan yang stabil. Senyawa hasil optimasi digunakan pada proses penambatan molekul dan simulasi dinamika molekul. Optimasi geometri dapat dilakukan menggunakan metode mekanika molekul (MM) ataupun mekanika kuantum (MK). Pemilihan metode yang digunakan disesuaikan dengan kebutuhan penelitian. Model MM bertujuan memprediksi energi berkaitan dengan pose tertentu dari molekul. Metode MK membahas jika molekul suatu senyawa terdiri dari elektron dan inti atom. Metode MK dapat memprediksi energi HOMO-LUMO dan memiliki akurasi yang tinggi (Tomberg, 2009).

II.6.1 Parameter Sifat Fisikokimia

Parameter sifat fisikokimia mempengaruhi aksi suatu senyawa antara lain bobot molekul (BM), koefisien partisi (LogP) serta HOMO – LUMO parameter yang berperan penting dalam perancangan senyawa obat.

1. Bobot Molekul (BM)

Berdasarkan aturan Lipinski, syarat nilai BM yaitu kurang dari 500 g/mol. Nilai BM kurang dari 500 g/mol menunjukkan bahwa ukuran molekul yang relatif kecil sehingga memudahkan senyawa obat menembus membran biologis (Lipinski *et al.*, 2012).

2. Koefisien partisi (LogP)

LogP merupakan parameter yang menunjukkan lipofilisitas dan hidrofobisitas suatu senyawa dan kondisi suatu senyawa larut dalam lemak atau menembus lapisan membran biologis (Ruswanto *et al.*, 2015). Jika nilai LogP semakin negatif maka senyawa tersebut bersifat hidrofilik, namun apabila nilai log P semakin positif maka senyawa tersebut bersifat hidrofobik. Persyaratan untuk nilai LogP berdasarkan aturan Lipinski adalah < 5 (Lipinski *et al.*, 2012).

3. HOMO-LUMO

Orbital terpenting dalam molekul adalah *Highest Occupied Molecular Orbital* (HOMO) dan *Lowest Unoccupied Molecular Orbital* (LUMO). Orbital ini menentukan cara molekul berinteraksi dengan senyawa lain. HOMO adalah orbital yang bertindak sebagai donor elektron dan LUMO adalah orbital yang sebagian besar berfungsi sebagai akseptor elektron. Gap energi antara HOMO dan LUMO adalah parameter kritis dalam menentukan transport elektron molekul (Suhasini *et al.*, 2015).

II.6.2 *Density Functional Theory (DFT)*

Density functional theory (DFT) merupakan pendekatan untuk perhitungan struktur elektron secara mekanika kuantum. DFT menggunakan persamaan Kohn-Sham yang merupakan persamaan numerik dari persamaan Schrodinger. DFT bertujuan untuk mencari keadaan dasar atom secara numerik. Energi keadaan dasar merupakan energi pada kondisi atom paling stabil, artinya untuk melakukan desain material perlu diketahui energi keadaan dasar dari atom penyusunnya (Sholl & Steckel, 2009).

II.7 *Docking*

Docking atau penambatan molekul termasuk ke dalam SBDD untuk memprediksi pose ligan dalam protein target dengan tingkat akurasi yang tinggi. Tujuan dari *docking* adalah memprediksi mode pengikatan dominan dari ligan dengan protein dari struktur tiga dimensi yang diketahui. *Docking* dapat digunakan untuk melakukan skrining virtual, memberi peringkat pada hasil dan mengusulkan hipotesis struktural tentang bagaimana ligan menghambat target, yang sangat berharga dalam pengoptimalan. *Docking* molekuler biasanya dilakukan antara molekul kecil dan makromolekul target (Ruvinsky & Kozintsev, 2006).

Interpretasi hasil *docking* dilakukan dengan melihat nilai energi bebas ikatan (ΔG) dan konstanta inhibisi (K_i), keduanya berkaitan dengan afinitas pengikatan, serta analisis interaksi ikatan yang terjadi antara ligan dan reseptor target (Syahputra *et al.*, 2014). Nilai ΔG negatif membuktikan bahwa senyawa uji memiliki afinitas yang baik. Nilai K_i menunjukkan banyaknya suatu ligan yang dapat menghambat atau menginhibisi suatu protein target. Semakin kecil nilai K_i maka akan semakin baik (Fadilah *et al.*, 2018).

II.7.1 Tahapan Penambatan Molekul

Tahapan penambatan molekul terdiri dari :

1. Algoritma pencarian, yakni menentukan pose yang optimal yang mungkin dari suatu ligan terhadap protein target, sehingga diperoleh pose paling stabil dari kompleks ligan-reseptor yang terbentuk. Gugus fungsional ligan akan berinteraksi dengan residu asam amino protein target sehingga akan membentuk ikatan (Farkhani, 2012).
Metode pencarian terbagi dalam dua kategori utama: sistematis dan stokastik. Metode pencarian sistematis mengambil sampel ruang pencarian pada interval yang telah ditentukan sebelumnya, dan bersifat deterministik. Metode pencarian stokastik secara

berulang membuat perubahan acak pada status variabel sampai menentukan kriteria terminasi, sehingga hasil pencarian bervariasi (Sousa *et al.*, 2006).

2. *Scoring*, yakni bertujuan untuk menghitung/memprediksi afinitas pengikatan antara protein target dan ligan yang terbentuk. Skor penilaian diberikan pada masing – masing pose yang akan diurutkan dan senyawa aktif dengan skor tertinggi ditetapkan sebagai pose ligan dengan protein yang paling sesuai (Farkhani, 2012). Fungsi *scoring* dapat berupa empiris atau *force field based* (Sousa *et al.*, 2006).

II.7.2 Validasi *Docking*

Validasi *docking* bertujuan untuk mendapatkan pengaturan metode yang valid. Validasi penambatan molekul dalam aplikasi Autodock dengan cara penambatan ulang ligan alami terhadap protein target. Konformasi dan tempat ligan berinteraksi di tentukan dengan pengaturan gridbox. Dikatakan valid jika hasil penambatan ulang pada pose pengikatan paling baik mendapatkan nilai RMSD $< 2 \text{ \AA}$. Selanjutnya pengaturan gridbox tersebut yang digunakan dalam metode *docking* senyawa uji (Camacho, 2016).

Dalam studi konformasi RMSD digunakan untuk mengukur kesamaan koordinat dalam struktur 3D. RMSD biasanya digunakan untuk ukuran kuantitatif kesamaan dua molekul atau lebih, dalam penambatan molekul RMSD berguna untuk mempelajari konfigurasi vektor ligan ketika terikat pada makromolekul dengan melihat tumpang tindih hasil penambatan ulang, semakin rendah nilai RMSD maka semakin baik model struktur dengan struktur aslinya (Sebastian, 2016).

Keberhasilan sering diukur dalam istilah *Root Mean Square Deviation* (RMSD) dari koordinat kartesius atom-atom ligan dalam konformasi dan kristalografi, *docking* umumnya dianggap berhasil jika kurang dari 2 \AA (Ruvinsky & Kozintsev, 2006). Setelah validasi, dilakukan *docking* ligan uji.

II.7.3 AutoDock

AutoDock adalah seperangkat alat *docking* untuk memprediksi suatu molekul kecil atau ligan mengikat reseptor dengan struktur 3D yang diketahui. Autodock terdiri atas dua program utama, yaitu program pelaksanaan *docking* pada Autodock dari suatu ligan dengan posisi pengikatan pada protein target, dan program perhitungan awal pada tempat penambatan molekul tersebut yaitu autogrid. Melalui program autogrid, afinitas dan konformasi suatu ligan pada tempat penambatan molekul dapat divisualisasikan. Hal tersebut menjadi penting

karena dapat menghasilkan pengikatan ligan dengan posisi yang paling kuat dari suatu protein tertentu. Selain untuk penambatan molekul, Autodock dapat memvisualisasikan grid afinitas. Telah dikembangkan antarmuka pengguna grafis yang disebut AutoDockTools, atau disingkat ADT, yang membantu mengatur ikatan mana yang akan diperlakukan sebagai ligan dan menganalisis *docking* (Morris G.M. & Dallakyan S., 2013).

II.8 Dinamika Molekul (MD)

Dinamika molekul (MD) memprediksi bagaimana setiap atom dalam protein atau sistem molekuler lainnya akan bergerak seiring waktu berdasarkan model umum fisika yang mengatur interaksi antar atom. Simulasi dinamika molekul dapat menangkap berbagai macam proses biomolekuler penting, termasuk perubahan konformasi, pengikatan ligan, dan pelipatan protein yang mengungkapkan posisi semua atom. Simulasi MD juga dapat memprediksi bagaimana biomolekul akan merespon pada tingkat atom terhadap gangguan seperti mutasi, fosforilasi, protonasi, dan penambahan atau penghilangan ligan. Simulasi MD sering digunakan dalam kombinasi dengan berbagai teknik biologi struktural eksperimental, termasuk kristalografi sinar-X, mikroskop cryoelektron (cryo-EM), resonansi magnetic nuklir (NMR), resonansi paramagnetik electron (EPR), dan transfer energi resonansi forster (FRET) (Hollingsworth & Dror, 2018).

II.8.1 Tahapan Simulasi Dinamika Molekul

Simulasi dinamika molekul terdiri dari beberapa tahapan yaitu persiapan berkas masukan ligan dan reseptor, pembuatan topologi dan koordinat ligan dan reseptor, solvasi, minimisasi, ekuilibrasi, produksi, dan interpretasi hasil dinamika molekul (D.A. Case *et al.*, 2020).

1. Tahap pertama persiapan file ligan dan reseptor, simulasi dinamika molekul dimulai dengan mempersiapkan berkas masukan, yaitu masing-masing ligan dan reseptor. Ligan yang digunakan adalah senyawa dengan klaster terbaik yang didapatkan dari hasil *docking* senyawa uji (D.A. Case *et al.*, 2020).
2. Pembuatan topologi dan koordinat, dibuat melalui berkas ligan, reseptor, dan kompleks ligan-reseptor dalam kondisi vakum dan dalam pelarut air. Tahapan topologi menggambarkan susunan atom – atom pada suatu molekul susunannya tidak mengalami perubahan baik dari awal sampai akhir simulasi namun posisinya berubah. Tahapan ini dilakukan agar susunan atom yang tetap dan tidak ada perubahan struktur atom-atom backbone residu maupun ligan (D.A. Case *et al.*, 2020).

3. Solvasi, memainkan peran penting dalam mendeskripsikan elektrostatis stabilitas lingkungan air, dan juga interaksi antar makromolekul. Model air digunakan supaya ligan – reseptor dilarutkan dalam suatu model air tujuannya mengkondisikan sesuai dengan fisiologis tubuh manusia, yang kandungan terbesarnya adalah air (Sneha & Priya Doss, 2016).

Model pelarut terbagi menjadi 2 macam yakni pelarut eksplisit dan implisit atau kontinum. Model pelarut eksplisit dapat memberikan detail maksimum, akurasinya lebih tinggi dibandingkan dengan implisit, namun secara komputasi memerlukan spesifikasi yang tinggi. Sedangkan model pelarut implisit atau kontinum lebih cepat daripada eksplisit, praktis memperkirakan total energi solvasi, dan pendekatannya sederhana namun sangat efisien secara komputasi. Macam – macam model pelarut air yaitu (Onufriev & Izadi, 2018):

a) TIP (*Transferable Intermolecular Potential*)

Model 'TIPn' titik N, yang dikembangkan oleh Jorgensen pada tahun 1981. Contoh model TIP diantaranya TIP3P, TIP4P, TIP5P dan lain – lain. Model paling sederhananya adalah model TIP3P (3 titik) berdasarkan geometri molekul air dalam fase gas dan memiliki tiga titik interaksi yang sesuai dengan tiga atom molekul air berikut strukturnya. Model TIP3P ini efektif, efisien pada komputasi, akurat dan sederhana, sering digunakan pada simulasi dinamika molekul (Onufriev & Izadi, 2018).

Model TIP4P (4 titik), memiliki empat titik interaksi dengan menambahkan satu atom dummy di dekat oksigen di sepanjang garis sudut HOH dari model tiga situs (diberi label M pada gambar). Atom dummy hanya memiliki muatan negatif. Model ini meningkatkan distribusi elektrostatis di sekitar molekul air (Onufriev & Izadi, 2018).

Model TIP5P (5 titik) menempatkan muatan negatif pada atom dummy (berlabel L) yang mewakili pasangan elektron 32 oksigen, dengan geometri seperti tetrahedral. Model awal dari jenis ini adalah model BNS dari Ben-Naim dan Stillinger, diusulkan pada tahun 1971 (Onufriev & Izadi, 2018).

- b) SPC (*Single Point Charge*) Model SPC terdiri dari tiga titik muatan. Perbedaan utama antara SPC dan TIP adalah geometri model. SPC didasarkan pada panjang ikatan OH 1 \AA dan $\angle \text{HOH } 109.5^\circ$, meniru bentuk tetrahedral molekul air dalam es. Contoh model air ini yakni SPC, SPC/E dan lain – lain (Onufriev & Izadi, 2018).

4. Kemudian dilakukan netralisasi supaya sistem menjadi keadaan netral karena muatan listrik yang ditimbulkan oleh air dapat menimbulkan gangguan terhadap sistem dengan penambahan ion seperti Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- .
5. Minimisasi energi untuk menghindari kontak antar atom yang tidak diinginkan (merelaksasi sistem). Struktur yang diminimalkan sangat membantu sebagai perhitungan termodinamika rata-rata dan estimasi entropi untuk sejumlah besar struktur yang sulit dianalisis. Terdiri dari tiga tahap yakni tahap pertama minimisasi terhadap molekul air saja, tahap kedua merupakan tahapan yang diberi tahanan terhadap proteinnya saja dan tahap terakhir merupakan minimisasi terhadap seluruh sistem yang tidak diberi tahanan agar minimisasinya maksimal (D.A. Case *et al.*, 2020).
6. Ekuilibrasi, dilakukan untuk menstabilkan suhu, volume dan tekanan pada sistem, sehingga sistem mencapai keadaan konstan sebelum menjalani simulasi dinamika molekul. Ada empat parameter yang harus diamati setelah ekuilibrasi dilakukan. Keempat parameter tersebut adalah temperatur, berat jenis, energi potensial dan RMSD (D.A. Case *et al.*, 2020).
7. Produksi, sebelumnya dilakukan pengecekan terhadap temperatur, berat jenis, energi potensial, dan RMSD. Parameter tersebut dilihat untuk menentukan apakah sistem telah siap untuk dilakukan proses produksi atau tidak (D.A. Case *et al.*, 2020).

II.8.2 Parameter Simulasi Dinamika Molekul

Setelah simulasi dinamika molekul dilakukan interpretasi hasil untuk mengetahui hasil dari simulasi tersebut.

1. *Root mean square deviation* (RMSD) adalah deviasi yang diamati untuk memprediksi stabilitas suatu protein. RMSD berperan dalam menentukan konvergensi sekaligus menjelaskan pelipatan protein. Representasi grafis dari nilai RMSD menjelaskan kemungkinan variasi yang terjadi selama simulasi (Sneha & Priya Doss, 2016).
2. *Root mean square fluctuation* (RMSF) adalah fluktuasi yang diamati antara residu atau atom yang ada dalam makromolekul. Fluktuasi atom menjelaskan tingkat fleksibilitas suatu protein selama simulasi (Sneha & Priya Doss, 2016). RMSF ditentukan dari waktu saat energi potensial memiliki fluktuasi minimal dimulai dari 1 ns sampai akhir simulasi. Tujuan analisis RMSF adalah untuk melihat fluktuasi pada masing – masing residu, yang menggambarkan fleksibilitas residu asam amino tersebut (D.A. Case *et al.*, 2020).

3. *Molecular Mechanics Generalized Born Surface Area* (MMGBSA), merupakan metode aksesibilitas pelarut untuk memperoleh energi bebas dari informasi struktural yang menghindari kompleksitas komputasi simulasi energi bebas. Pendekatan MMGBSA adalah parameter dalam perkiraan aditivitas, di mana perubahan energi bebas bersih diperlakukan sebagai jumlah komponen energi individu yang komprehensif, masing-masing dengan dasar fisik. Pada metode simulasi dinamika molekul untuk memperkirakan energi bebas ikatan, dan konstanta inhibisi (Ylilauri & Pentikäinen, 2013)

II.8.3 Assisted Model Building with Energy Refinement (AMBER)

Assisted Model Building with Energy Refinement (AMBER) adalah perangkat lunak untuk serangkaian program melakukan simulasi dinamika molekuler, khususnya pada biomolekul. Istilah AMBER juga merujuk pada medan gaya empiris yang diterapkan. Rangkaian perangkat lunak AMBER dibagi menjadi dua bagian: *AmberTools 20*, kumpulan program yang tersedia secara bebas sebagian besar di bawah lisensi GPL dan Amber 20, yang berpusat di sekitar program simulasi pmemd, dan yang terus dilisensikan seperti sebelumnya, di bawah lisensi yang lebih ketat. Amber 20 mewakili perubahan signifikan dari versi terbaru sebelumnya, Amber 18 yang dapat dilihat melalui <http://ambermd.org>. *AmberTools* adalah sekumpulan program untuk simulasi dan analisis biomolekuler (D.A. Case *et al.*, 2020).

Informasi yang dibutuhkan oleh program simulasi (sander, pmemd, mdgx atau nab) (D.A. Case *et al.*, 2020) :

1. Koordinat kartesius untuk setiap atom dalam sistem. Ini biasanya berasal dari kristalografi sinar-X, NMR spektroskopi, atau pembuatan model. Umumnya harus dalam format Protein Data Bank (PDB). Program *LEaP* menyediakan platform untuk melaksanakan banyak tugas dalam pemodelan
2. Topologi, konektivitas, nama atom, jenis atom, nama residu, dan muatan. Informasi ini berasal dari database, yang ditemukan mengandung topologi untuk asam amino standar serta asam amino bermuatan N- dan C-terminal, DNA, RNA, serta gula dan lemak. Informasi topologi untuk molekul lain (tidak ditemukan dalam standard database) disimpan dalam "file residu" yang dihasilkan pengguna, yang umumnya dibuat menggunakan *antechamber*.
3. Medan gaya, parameter untuk semua ikatan, sudut, dihedral, dan jenis atom dalam sistem. Standar parameter untuk beberapa medan gaya ditemukan dalam database.

Dapat digunakan untuk protein dan asam nukleat, atau dapat digunakan modifikasi pada medan gaya standar.

II.9 Prediksi Toksisitas

Tujuan dari prediksi toksisitas secara *in silico* adalah untuk memprediksi toksisitas kimiawi melalui pemodelan komputasi dan untuk memprediksi algoritme dengan data toksisitas. Prediksi toksisitas dianggap sebagai salah satu alternatif pengujian hewan menggunakan berbagai teknik komputasi yang menghubungkan toksisitas atau kemanjuran suatu bahan kimia dengan strukturnya. Teknik komputasi memungkinkan untuk memprediksi secara kuantitatif dan kualitatif toksisitas bahan kimia, campuran, bahan nano dan sebagainya (Kar & Leszczynski, 2019).

Dalam beberapa tahun terakhir, model prediksi toksisitas telah dikembangkan di bidang penilaian risiko kimia bersama dengan server Web ADMET SAR dengan metode pembelajaran mesin dan peringatan structural yang telah dikembangkan untuk penggunaan public tanpa biaya. Untuk memodelkan karsinogenesis kimia, beberapa peneliti telah mengembangkan CarcinoPred-EL, server Web yang dapat memprediksi karsinogenesis secara online. Lebih dari 8000 senyawa dengan mutagen *Ames* diketahui, dan dalam beberapa tahun terakhir data toksisitas ini telah digunakan untuk memperluas model prediktif dan peringatan struktural. Beberapa metode dikembangkan dan diterapkan untuk membangun model klasifikasi dan regresi untuk memprediksi LD₅₀ atau kategori toksisitasnya (Rim, 2020).

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

Metodologi yang digunakan pada penelitian ini meliputi metode *docking*, dinamika molekul dan prediksi toksisitas. Tahapannya antara lain persiapan ligan, optimasi geometri, persiapan protein target, validasi metode *docking*, simulasi *docking* ligan uji, simulasi dinamika molekul, interpretasi hasil dan prediksi toksisitas.

Persiapan ligan menggunakan aplikasi *Chem Office* 2014 meliputi pemodelan struktur 2D dan 3D, kemudian dilakukan optimasi geometri ligan uji dengan metode *Density Functional Theory* (DFT), basis set 6-31G dan fungsi B3LYP menggunakan aplikasi Gaussian 09, lalu penentuan sifat fisikokimianya. Persiapan protein target dengan mempersiapkan struktur 3D *Angiotensin-1 converting enzyme* yang diunduh dari www.rcsb.org dengan kode PDB ID 6EN5.

Validasi metode *docking* antara *angiotensin-1 converting enzyme* dan ligan alami menggunakan aplikasi Autodock versi 4.2.6. Interpretasi hasil dilihat dari nilai RMSD, dikatakan valid jika nilai $RMSD \leq 2\text{\AA}$. Selanjutnya dilakukan simulasi *docking* antara *angiotensin-1 converting enzyme* dan senyawa uji menggunakan aplikasi Autodock versi 4.2.6 dengan parameter yang sudah tervalidasi, kemudian dilakukan interpretasi hasil antara lain nilai ΔG (energi bebas ikatan), nilai K_i (konstanta inhibisi) dan interaksi ikatan yang terbentuk antara ligan dan protein target.

Senyawa terbaik hasil dari simulasi *docking* digunakan untuk simulasi dinamika molekul menggunakan aplikasi AMBER versi 18 untuk melihat kestabilan interaksi reseptor dengan ligan meliputi tahapan minimisasi, pemanasan dengan suhu 310 K dan produksi selama 50 ns yang mensimulasikan pada keadaan yang mendekati fisiologis tubuh manusia, kemudian dilakukan interpretasi hasil antara lain RMSD, RMSF dan MMGBSA. Kemudian tahap terakhir dilakukan prediksi toksisitas terhadap masing-masing ligan untuk memprediksi sifat toksisitas ligan tersebut.