

STUDI IN SILICO AFINITAS SENYAWA AKTIF BIJI KACANG MERAH (*Phaseolus vulgaris*) TERHADAP PROTEIN *SIRTUIN-1* (SIRT-1) DAN *NUCLEAR RELEATING FACTOR-2* (NRF2) UNTUK MENCEGAH ALZHEIMER

M. Josie Yusuf, Anita Puspa Widiyana, Dini Sri Damayanti*
Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Protein *Sirtuin-1* (SIRT-1) dan *Nuclear Releating Factor-2* (NRF2) berperan dalam mekanisme terjadinya Alzheimer. Secara empiris kacang merah (*Phaseolus vulgaris*) mengandung senyawa aktif untuk menghambat Alzheimer, namun mekanismenya terhadap SIRT-1 dan NRF2 belum pernah diteliti. Penelitian dilakukan untuk mengetahui mekanisme kacang merah mencegah Alzheimer melalui aktivasi SIRT-1 dan NRF2.

Metode: Penelitian dilakukan secara In Silico dengan menggunakan *docking server* untuk menilai afinitas senyawa aktif biji kacang merah terhadap protein SIRT-1 dan NRF2. Uji farmakokinetik, fisikokimia dinilai dengan pkCSM (*Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties*). Analisa dilakukan dengan diskriptif analitik dengan melihat hasil afinitas senyawa aktif terhadap SIRT-1 dan NRF2 dibandingkan obat kontrol.

Hasil: Didapatkan 5 senyawa aktif (beta sitosterol, sianidin, glisitein, biochanin A, dan genistein) dari 8 senyawa aktif yang diteliti memiliki afinitas tinggi terhadap protein SIRT-1 dan 5 Senyawa aktif (beta sitosterol, biochanin A, genistein, glisitein, dan formononetin) dari 20 senyawa aktif yang didockingkan memiliki afinitas yang tinggi terhadap protein NRF2. Hasil prediksi parameter fisikokimia seluruh senyawa aktif memenuhi hukum 5 Lipinski. Hasil Prediksi sifat farmakokinetik β -sitosterol adalah senyawa yang memiliki nilai paling baik.

Kesimpulan: senyawa aktif biji kacang merah mempunyai potensi sebagai pencegahan alzheimer dengan mengaktifkan SIRT-1 dan NRF2 yaitu beta sitosterol. Beta sitosterol juga mempunyai afinitas, fisikokimia, farmakokinetik yg baik dan tidak bersifat toksik sehingga dapat menjadi kandidat kuat obat pencegahan Alzheimer melalui peningkatan SIRT-1 dan NRF2.

Kata Kunci : *Alzheimer; Phaseolus vulgaris; in silico*

*korespondensi:

Dini Sri Damayanti, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

Alamat: Jl MT Haryono 193 Kota Malang, Jawa Timur Indonesia 65145 Email: dinisridamayanti@unisma.ac.id

POTENTIAL OF THE RED BEAN (*Phaseolus vulgaris*) PREVENTING ALZHEIMER THROUGH ACTIVATION OF SIRTUIN-1 (SIRT-1) AND NUCLEAR RELEATING FACTOR-2 (NRF2) IN *IN SILICO*

M. Josie Yusuf, Anita Puspa Widiyana, Dini Sri Damayanti
Faculty of Medicine University of Islam Malang

ABSTRACT

Introduction: Red bean (*Phaseolus vulgaris*) contain various active compounds that have potential to prevent Alzheimer disease. However, the mechanism of active compounds to prevent Alzheimer disease not yet known so it needs to be investigated.

Method: This research using the computational method to predict the affinity of the active compound of red bean seeds to the target proteins Sirtuin-1 (SIRT-1) and Nuclear Releating Factor-2 (NRF2) was measured using a *docking server* and compared with the control drugs, namely Resveratrol and DMF. Pharmacokinetic's prediction test, physicochemical and toxicity profiles using pkCSM apps. The analysis was carried out by analytical descriptive and molecular anchoring validation based on the Root Mean Square Deviation (RMSD) with a value of less than 2 angstroms.

Results: The active compound beta sitosterol, cyanidin, glycitein, biochanin A, and genistein has high affinity for SIRT-1. The active compounds beta sitosterol, biochanin A, genistein, Glycitein, and formononetin have high affinity for NRF2. The results of the prediction of the physicochemical profiles 18 active compounds complied with lipinski's rule. Prediction of pharmacokinetic the active compound beta sitosterol is the compound that has the best value.

Conclusion: The active compounds of red bean seeds have a potential to be an Alzheimer's prevention by activating SIRT-1 and NRF2 is Beta Sitosterol. These compounds are soluble in water, have good pharmacokinetics and are not potentially toxic.

Keywords: *Alzheimer; Phaseolus vulgaris; in silico*

*Correspondence:

Dini Sri Damayanti

Faculty of Medicine, University of Islam Malang

Address: Jl MT Haryono 193 Malang City, East Java Indonesia, 65145 Email: dinisridamayanti@unisma.ac.id

PENDAHULUAN

Penyakit Alzheimer adalah penyakit dengan gejala klinis berupa adanya gangguan kognitif secara progresif seperti gangguan penilaian, kesulitan dalam mengambil keputusan, dan gangguan orientasi. Prevalensi Alzheimer di Indonesia sekitar 1,2 juta orang pada tahun 2015 dan diprediksi akan meningkat menjadi 2 juta pada tahun 2030. Pada seseorang yang mengalami Alzheimer produktifitas kesehariannya akan terganggu dan juga berpengaruh terhadap hubungan sosial di lingkungan sekitarnya. sehingga apabila suatu negara dengan bertambahnya jumlah pasien Alzheimer dan tidak sebanding dengan usia produktif maka akan memperlambat perkembangan negara tersebut^{1,2}.

Salah satu penyebab Alzheimer adalah penurunan aktivitas dari SIRT-1 (*Sirtuin-1*) dan NRF2 (*Nuclear Releating Factor 2*). SIRT-1 adalah salahsatu protein golongan sirtuin dapat mencegah hiperfosforilasi pada mikrotubulus yang akan merusak Tau Protein. Kerusakan tersebut menghambat neurodegenerasi dan memicu terjadinya Alzheimer sehingga memiliki peran penting dalam diferensiasi neuron melalui aktivasi dari SIRT-1³. Resveratrol memainkan peran penting dalam diferensiasi neuron melalui aktivasi Sirtuin-1. NRF2 adalah protein transkripsi dapat menghambat pembentukan plak amyloid dari agregasi amyloid beta yang berpotensi untuk menyebabkan apoptosis dari sel neuron sehingga dapat mencegah pembentukan neurodegenerasi yang dapat memicu terjadinya Alzheimer. Studi yang dilakukan oleh Kim *et al.*, 2017 membuktikan bahwa DMF dan curcumin merupakan aktivator dari NRF2. DMF merupakan obat yang telah direkomendasikan oleh FAO sebagai aktivator NRF2 yg berfungsi sebagai antioksidan dan antiinflamasi⁴. Dengan demikian peningkatan aktivitas dari SIRT-1 dan NRF2 diharapkan dapat menurunkan resiko terjadinya alzheimer.

Kacang merah (*Phaseolus vulgaris*) merupakan salah satu golongan kacang-kacangan yang memiliki berbagai kandungan senyawa aktif golongan flavonoid turunan isoflavon dan golongan lainnya⁵. Senyawa aktif kacang merah diketahui memiliki manfaat pada penyakit degeneratif sebagai antioksidan.

Menurut penelitian sebelumnya isoflavon secara *in vitro* juga menghambat pembentukan amyloid pada hari ke 6⁶. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek senyawa aktif terhadap aktivasi dari SIRT-1 dan NRF2 untuk mencegah Alzheimer dengan melihat afinitas, fisikokimia, farmakokinetik, dan toksisitas secara *in silico*.

METODE PENELITIAN

Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode *in silico* untuk melakukan penambatan molekul, prediksi sifat fisikokimia, farmakokinetik dan toksisitas senyawa aktif kacang merah (*Phaseolus vulgaris*). Penentuan senyawa aktif berasal dari hasil penelitian Damayanti, 2019 dan *Dr. Duke Phytochemical and Ethnobotanical Databases Chemicals found in Chimaphila umbellata*.

Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Oktober sampai dengan Desember 2021 di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang.

Penentuan kontrol

Uji validitas suatu alat ukur dalam melakukan fungsi ukurannya diujikan berdasarkan Root Mean Square Deviation (RMSD) yang ditampilkan pada penambatan molekul anatara protein dan kontrol obat. obat kontrol menggunakan Resveratrol dan DMF. didasarkan pada pemilihan protein target yaitu SIRT-1 dan NRF2.

Uji Penambatan Molekul Senyawa Aktif Kacang Merah terhadap SIRT-1 dan NRF2

Proses awal penambatan molekul adalah menentukan senyawa aktif biji kacang merah yang didapatkan dari hasil penelitian Damayanti, 2019 dan *Dr. Duke Phytochemical and Ethnobotanical Databases Chemicals found in Chimaphila umbellata* dan senyawa 3D format SDFnya diambil dari <https://www.ncbi.nih.gov/>. pengunduhan protein target SIRT-1 (5BTR) dan NRF2 (2LZ1) format PDB diambil pada <https://www.uniprot.org>. Proses selanjutnya dilakukan preparasi protein target menggunakan Biovia untuk menghilangkan molekul air dan ligan, dilakukan dua kali preparasi protein dengan menyisakan obat kontrol untuk dilakukan pengujian validasi penambatannya. Penelitian diawali dengan uji validitas dengan melakukan penambatan antara protein target dengan kontrol obatnya.

Ligan dan Protein yang diunduh kemudian dilakukan penambatan molekul menggunakan *docking server* dengan mengupload berkas ligan dan protein target dan memulai penambatan pada menu *start docking*.

Proses docking memperhatikan ukuran grid box dengan rincian pada tabel 1.

Gambar 1. Struktur SIRT-1 dan NRF2**Tabel 1. Ukuran Grid Box**

	SIRT-1	NRF2
nx	20	20
ny	15	20
nz	20	20
cx	77.88	66.91
cy	50.31	47.55
cz	7.32	7.74

Keterangan: pada saat penambatan molekul memperhatikan ukuran grid box pada masing masing protein target.

Afinitas ikatan antara senyawa aktif kacang merah dengan protein targetnya diukur berdasarkan nilai energi ikatan bebas, luas area interaksi, dan residu asam amino.

Energi ikatan bebas adalah besarnya energi yang dilepaskan oleh suatu senyawa untuk berikatan dengan protein target. Semakin negatif nilainya maka afinitasnya akan semakin besar yang berarti ikatan antara senyawa aktif dan protein target semakin stabil⁷.

Luas interaksi permukaan adalah luas cakupan senyawa dalam mengikat protein target. Semakin besar nilai interaksi permukaan menunjukkan semakin kuat ikatan antara ligan dan protein serta semakin besar aktifitas biologisnya⁸.

Residu asam amino adalah asam amino pada protein untuk mengikat ligan. Semakin banyak ikatan asam amino yang terbentuk maka semakin tinggi afinitasnya. Perhitungan kesamaan residu asam amino digunakan untuk melihat keefektifan dari senyawa aktif sama atau tidak dengan kontrol obat, dikatakan efektif apabila nilainya diatas 50%. Cara melakukan perhitungannya yaitu jumlah asam amino yang sama dengan obat kontrol dibagi jumlah asam amino obat kontrol dikalikan 100%⁹.

Prediksi Parameter Fisikokimia Senyawa Aktif Kacang Merah

Proses awal untuk melakukan prediksi fisikokimia adalah melakukan *copy* kode smile ligan pada *pubchem*. selanjutnya Paste pada kolom kode smile web *PKCsm online tools*. Kemudian menekan menu ADMET dan kemudian hasil fisikokimia akan langsung keluar dalam bentuk tabel.

Parameter fisikokimia yang digunakan pada penelitian penambatan molekular ini dilakukan menggunakan parameter hukum 5 Lipinski. Suatu senyawa dikatakan memenuhi aturan 5 Lipinski jika terdapat minimal 2 dari empat syarat diantaranya nilai berat molekul (BM) <500 Dalton, Log P < 5, ikatan hidrogen donor (HBD) < 5, dan asektor ikatan hidrogen (HBA) < 10.

Berat molekul yang kecil memudahkan senyawa untuk diabsorbsi. Apabila berat molekul >500 Dalton tidak dapat berdifusi menembus membran sel sehingga sulit untuk diabsorbsi. Nilai Log P digunakan untuk menentukan kepolaran dari suatu senyawa. Dimana Log P >5 menyebabkan senyawa suatu obat berpotensi memiliki tingkat toksik yang lebih tinggi karena akan tertahan lebih lama pada *lipid bilayer* sehingga selektivitas ikatan terhadap enzim target menjadi berkurang. Jumlah donor dan asektor ikatan hidrogen menunjukkan semakin tinggi kapasitas suatu ikatan hidrogen maka akan semakin tinggi energi yang dibutuhkan untuk proses absorpsi¹⁰.

Prediksi Parameter Farmakokinetik dan Toksisitas Senyawa Aktif Kacang Merah

Proses awal untuk melakukan prediksi farmakokinetik adalah melakukan *copy* kode smile ligan pada *pubchem*. selanjutnya Paste pada kolom kode smile web *PKCsm online tools*. Kemudian menekan menu ADMET dan kemudian hasil farmakokinetik akan langsung keluar dalam bentuk tabel.

HASIL PENELITIAN

Hasil Data Uji Validitas Penambatan Molekul

Hasil validasi berdasarkan RMSD antara Resveratrol sebagai kontrol dengan SIRT-1 didapatkan hasil 1,436 Å, sedangkan validasi DMF terhadap NRF2 didapatkan nilai 1,645 Å. Hasil penambatan Resveratrol dan DMF terhadap protein targetnya disebut valid sebagai kontrol jika mempunyai nilai RMSD kurang dari 2 Å¹³.

Hasil Data Penambatan Molekul Senyawa Kacang Merah dengan SIRT-1 dan NRF2

Hasil penambatan senyawa aktif kacang merah (*Phaseolus vulgaris*) dengan kontrol Resveratrol terhadap protein SIRT-1 dapat dilihat pada **Tabel 2**, dan penambatan molekul senyawa aktif terhadap NRF2 dengan obat kontrol DMF pada **Tabel 3**.

Tabel 2. Hasil Penambatan Molekul Senyawa Aktif Kacang Merah dan Resveratrol terhadap SIRT-1

Ligan	ΔG (kcal/mol)	Luas Permukaan (\AA)	Residu Asam Amino	Kesamaan Residu Asam Amino (%)
Resveratrol (Kontrol)	-6,35	596,613	Polar: HIS363 Hidrofobik: VAL412, ILE347, VAL445, PRO447 Lain-lainnya: ILE411	100
Beta sitosterol	-8,94	934,661	Hidrofobik: HIS363 , PHE414, ALA262, VAL445 , PHE273, HIS467, ILE347 Lain-lainnya : ARG274, ILE411 , SER442, SER441, GLN345	67
Delphinidin	-7,67	682,817	Hidrogen: SER441 Polar: HIS363 , ASN346, GLN345 Hidrofobik: PHE273, ILE347 Lain-lainnya: ARG247, VAL445 , ILE411 , LYS444, SER442	67
Genistein	-7,18	674,903	Polar: HIS363 , SER441 Hidrofobik: PHE273, PHE414, VAL445 , ILE347 Lain-lainnya :ARG247, GLN345, ILE411 , SER442, LYS444	67
Daidzein	-7,03	642,64	Polar: HIS363 , SER442 Hidrogen: SER441 Hidrofobik: PHE273, VAL445 , ILE347 Lain-lainnya: ARG274, GLN345, ILE411	67
Formononetin	-6,94	650,259	Polar: HIS363 , SER441 Hidrofobik: PHE273, VAL445 , ILE347 , PHE414 Lain-lainnya: ARG274, GLN345, ILE411 , SER442, LYS444	67
Sianidin	-7,78	685,3	Polar: HIS363 , ARG274, ASN346 Hidrogen: LYS444, SER442, ALA262, SER441 Hidrofobik: PHE414, VAL445 , ILE347 Lain-lainnya: GLN345	50
Glisitein	-7,74	701,303	Hidrogen: SER442 Polar: ARG274, HIS363 , SER441 Hidrofobik: PHE414, VAL445 , ALA262 Lain-lainnya : PHE297, GLN345, ILE347	50
Biokanin A	-7,31	674,462	Polar: HIS363 , GLN345, ASN346, SER442 Hidrogen: SER441 Hidrofobik: PHE414, ILE347 , VAL445 Lain-lainnya: ARG274	50

Keterangan: ΔG adalah Ikatan Energi Bebas. Dari tabel hasil penambatan molekul diatas didapatkan 5 senyawa yang mempunyai afinitas terbaik berurutan yaitu Beta Sitosterol, Delphinidin, Genistein, Daidzein, dan formononetin.

Tabel 3. Hasil Penambatan Molekul Senyawa Aktif Kacang Merah dan DMF terhadap NRF2

Ligan	ΔG (kkal/mol)	Luas Permukaan (\AA)	Residu Asam Amino	Kesamaan Residu Asam Amino (%)
DMF (Kontrol)	-3,07	427,969	Hidrofobik: VAL465 Lain-lainnya: VAL606	100
Beta sitosterol	-11,73	943,806	Hidrofobik: ILE559, ALA607, VAL418, VAL369, VAL420, VAL608, ALA366, CYS368 Lain-lainnya : VAL606	50
Biokanin A	-7,25	679,284	Hidrogen: THR560, VAL561 Hidrofobik: ILE559 Lain-lain: VAL465 , ALA466	50
Genistein	-7,13	677,469	Hidrogen: VAL465 Hidrofobik: ALA466, ALA366, CYS513	50
Delphinidin	-7,08	670,236	Hidrofobik: ALA366, VAL514 Lain-lainnya : VAL606 , ILE559	50
Glisitein	-6,92	603,507	Hidrogen: VAL418, THR560 Hidrofobik: ALA366, CYS513 Lain-lainnya: VAL606 , VAL561	50
Genistein	-6,83	696,525	Hidrogen: ARG415 Hidrofobik: ALA366, ALA556, VAL465	50
Formononetin	-6,70	625,939	Hidrogen: ILE559, THR560 Hidrofobik: ALA366, CYS513 Lain-lain: VAL606	50
Daidzein	-6,45	710,095	Hidrogen: ILE559, VAL465 , THR560 Hidrofobik: CYS513	50

Keterangan: ΔG adalah Ikatan Energi Bebas. Dari tabel hasil penambatan molekul diatas didapatkan 5 senyawa yang mempunyai afinitas terbaik berurutan yaitu Beta Sitosterol, Biokanin A, Genistein, Delphinidin, dan Glisitein.

Hasil Uji Parameter Fisikokimia dan Penerapan Aturan 5 Lipinski Senyawa Aktif Kacang Merah

Hasil prediksi sifat fisikokimia dari senyawa aktif kacang merah dapat dilihat pada **tabel 4**.

Tabel 4. Hasil Prediksi Parameter Fisikokimia Senyawa Aktif Kacang Merah

Nama Senyawa Aktif	CID	Rumus Kimia	Parameter Hukum 5 Lipinski				Memenuhi aturan Hukum 5 Lipinski
			BM	LogP	HBA	HBD	
Genistein	5280961	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	270,24	2,57	5	3	Ya
Glisitein	5317750	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	284,26	2,87	5	2	Ya
Daidzein	5281708	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	254,24	2,87	4	2	Ya
Sianidin	128861	C ₁₅ H ₁₁ O ₆ ⁺	287,24	2,90	5	5	Ya
Delphinidin	68245	C ₁₅ H ₁₁ ClO ₇	338,69	2,38	5	6	Ya
Beta sitosterol	222284	C ₂₉ H ₅₀ O	414,71	8,02	1	1	Ya
Biokanin A	5280373	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	284,26	2,87	5	2	Ya
Formononetin	5280378	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	268,26	3,17	4	1	Ya

Keterangan: Berat Molekul = BM, Lipofilisitas = LogP, *Hydrogen bond acceptor* = HBA, *Hydrogen bond donor* = HBD. Dari hasil 4 parameter hukum 5 lipinski diatas didapatkan senyawa aktif yang mempunyai parameter fisikokimia yang baik yaitu Genistein, Glisitein, Daidzein, Sianidin, Delphinidin, Beta sitosterol, Biokanin A, Formononetin,

Hasil Uji Parameter Farmakokinetik dan Toksisitas Senyawa Aktif Kacang Merah

Hasil dari prediksi farmakokinetik (ADME) dan Toksisitas dari senyawa aktif kacang merah meliputi profil absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, toksisitas dapat dilihat pada **tabel 5**.

Tabel 5. Hasil Prediksi Sifat Farmakokinetik dan Toksisitas Senyawa Aktif Kacang Merah

Nama senyawa	Absorpsi		Distribusi		Metabolisme		Eksresi	Toksisitas
	AI (%)	Per. Caco2 (10 ⁻⁶ cm/s)	Vdss (Log L/Kg)	BBB (log BB)	CYP2D6 inhibitor	CYP3A4 inhibitor	CLTOT (log ml/min/kg)	LD ₅₀ (mg/Kg)
Genistein	93,38	0,9	0,09	-0,71	Tidak	Tidak	0,15	12.268
Glisitein	94,68	1,17	-0,04	-0,32	Tidak	Tidak	0,20	12.170
Daizein	94,83	0,93	-0,14	-0,06	Tidak	Tidak	0,16	12.164
Sianidin	87,30	-0,35	0,95	-1,23	Tidak	Tidak	0,53	12.464
Delphinidin	61,91	-0,32	0,96	-1,28	Tidak	Tidak	0,57	12.548
Beta sitosterol	94,46	1,20	0,19	0,78	Tidak	Tidak	0,62	12.552
Biokanin A	93,02	0,9	-0,14	-0,22	Tidak	Tidak	0,24	11.851
Formononetin	96,11	1,25	-0,12	0,15	Tidak	Tidak	0,25	11.946

Keterangan: absorpsi intestinal = AI, permeabilitas Caco2 = Per. Caco2, *Volume distribution steady state* = Vdss, *Blood Brain Barrier*= BBB, sitokrom P450 = CYP2D6 inhibitor dan CYP3A4 inhibitor, *Clearance Total* = CLTOT, *Oral Rat Acute Toxicity*=LD₅₀. Dari hasil farmakokinetik dan toksisitas diatas terdapat senyawa yang mempunyai absorpsi yang baik di intestinal yaitu Beta Sitosterol, Formononetin, Biokanin A, Genistein, Glisitein, Sianidin, Delpinidhin

PEMBAHASAN

Hasil Data Uji Validitas Penambatan Molekul

Hasilnya dikatakan valid karena nilainya kurang dari 2 Å. RMSD adalah parameter yang menggambarkan seberapa besar perubahan interaksi protein dan ligan pada suatu struktur kristal pada saat sebelum dan sesudah proses penambatan molekul (*docking*) untuk mengetahui besarnya nilai penyimpangan¹³

Penambatan Molekul Senyawa Aktif Kacang Merah terhadap SIRT-1 dan NRF2

Pada penambatan molekul terhadap SIRT-1 diperoleh 5 dari 8 senyawa aktif kacang merah (*Phaseolus vulgaris*) yang memiliki nilai afinitas tinggi terhadap protein target SIRT-1 dibandingkan obat kontrol berurutan yaitu Beta Sitosterol, Delphinidin, Genistein, Daizein, dan Formononetin karena mempunyai energi bebas lebih rendah, luas permukaan interaksi lebih tinggi, tetapi mengikat 67% sisi aktif protein target dibandingkan kontrol.

Pada penambatan molekul terhadap NRF2 diperoleh 5 dari 8 senyawa aktif kacang merah (*Phaseolus vulgaris*) yang memiliki nilai afinitas tinggi terhadap protein target NRF2 dibandingkan obat kontrol berurutan yaitu Beta Sitosterol, Biokanin A, Genistein, Delphinidin, dan Glisitein yang mempunyai energi bebas lebih rendah, luas interaksi permukaan yang lebih luas, tetapi mengikat 50% sisi aktif protein target dibandingkan kontrol. Jika kesamaan residu asam amino senyawa aktif semakin mirip atau tinggi dengan kontrol obat maka senyawa tersebut mempunyai ikatan ligan dan reseptor yang semakin kuat sehingga menimbulkan efek fisiologis yang tinggi.

Prediksi Parameter Fisikokimia, Farmakokinetik, dan Toksisitas Senyawa Aktif Kacang Merah

Parameter fisikokimia yang digunakan pada penelitian penambatan molekular ini dilakukan menggunakan parameter hukum 5 Lipinski. Hasil dari penelitian ini terdapat seluruh senyawa aktif sudah memenuhi hukum 5 lipinski sehingga memiliki kelarutan yang tinggi dan bioavailabilitas yang baik untuk dikonsumsi secara oral.

Pada prediksi parameter farmakokinetik menggunakan parameter absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas.

Absorpsi intestinal adalah parameter untuk Menilai senyawa mudah tidaknya diserap di intestinal. Untuk bisa dikatakan suatu senyawa diserap baik oleh intestinal, parameter absorpsi intestinal harus diatas 30%²⁵. Dari hasil penelitian ini didapatkan seluruh senyawa aktif mempunyai

nilai diatas 30% sehingga memiliki daya absorpsi di intestinal yang tinggi. Permeabilitas Caco2 yaitu parameter untuk Menilai senyawa dapat dengan mudah tidaknya dalam menembus barrier sel Caco2. Untuk bisa dikatakan suatu senyawa diserap baik oleh intestinal, parameter permeabilitas Caco2 harus diatas 0,9²⁵. Dari hasil pengukuran parameter permeabilitas CaCO₂ didapatkan 8 senyawa yang memenuhi syarat yaitu Genistein, Glisitein, Daizein, Beta sitosterol, Biokanin A, Formononetin, dikarenakan mempunyai nilai lebih dari 0,9 x 10⁻⁶ cm/s sehingga mudah dalam menembus barrier sel CaCO₂.

Berdasarkan profil distribusi dilihat dari parameter volume distribution stady state (VDss) yaitu konsentrasi senyawa aktif pada sirkulasi darah yang dipertahankan dalam rentang waktu tertentu. Nilai yang ditunjukkan Log Vdss harus >-0,15²⁵. Dari hasil pengukuran parameter distribusi yaitu VDss didapatkan seluruh senyawa aktif mempunyai nilai lebih dari -0,15 Log L/Kg sehingga memiliki konsentrasi yang dapat dipertahankan dalam waktu tertentu. Parameter yang diujikan selanjutnya adalah Blood Brain Barrier (BBB) yaitu parameter untuk menilai mudah tidaknya senyawa tersebut menembus sawar otak atau BBB. Nilai yang baik untuk dapat dikatakan menembus sawar otak jika logBB >3²⁵. Hasil penelitian ini didapatkan hanya beta sitosterol yang mudah menembus sawar otak dikarenakan mempunyai nilai lebih dari 0,3 log BB.

Profil metabolisme dilihat dari parameter CYP2D6 dan CYP3A4 inhibitor. Jika ditemukan inhibitor enzim P450 maka proses oksidasi pada hepar tidak terjadi. senyawa aktif tidak akan di inaktivasi dan akan terus aktif, sehingga akan berakibat toksik²⁵. Hasilnya seluruh senyawa aktif tidak ditemukan CYP2D6 dan CYP3A4 inhibitor sehingga proses inaktivasi senyawa aktif di hepar akan berlangsung dan dapat di metabolisme baik di hepar.

Profil ekskresi, CLTOT adalah parameter untuk menilai proses clearance dari semua senyawa yang di distribusikan. semakin besar nilainya maka semakin cepat proses clearance dari semua senyawa yang didistribusikan. Nilai CLTOT yang baik dari senyawa aktif harus diatas 0,2²⁵. Hasil penelitian ini didapatkan 15 senyawa aktif memiliki nilai CLTOT > 0,2 sehingga dapat di simpulkan memiliki CLTOT yang sangat baik dan dapat diekresikan dengan normal sehingga tidak mengakibatkan akumulasi. Glisitein dan daizein mempunyai CLTOT yang rendah sehingga berpotensi besar menimbulkan akumulasi.

Profil terakhir adalah menentukan potensi toksisitas senyawa aktif dari parameter *Oral Rat Acute Toxicity* (LD₅₀). Senyawa dikatakan tidak

berpotensi mengalami toksik apabila nilainya >5000 mg/Kg²⁶. Hasilnya didapatkan seluruh senyawa aktif sudah memenuhi syarat sehingga tidak berpotensi menimbulkan toksisitas dan aman untuk dikonsumsi secara oral.

Dari uraian diatas dapat disimpulkan senyawa aktif yang mempunyai afinitas, fisikokimia dan farmakokinetik yang baik yaitu Beta Sitosterol, delphinidin, dan genistein. Beta Sitosterol adalah senyawa golongan fitosterol yang diketahui memiliki efek antimikroba, antikanker, anti-inflamasi, penurunan lipid, hepatoprotektif, efek perlindungan pada penyakit pernapasan, efek penyembuhan luka, antioksidan dan anti diabetes. Pada penelitian yang dilakukan secara *in vitro* senyawa tersebut terbukti dapat bekerja sebagai antioksidan yang bersifat neuroprotektif terhadap peradangan saraf yang diinduksi A β ²⁹. Genistein dan delphinidin adalah senyawa golongan flavonoid yang terbukti memiliki efek anti-inflamasi sebagai neuroprotektif dan antioksidan^{30,31}. Genistein dan Delphinidin walaupun mampu berikatan dengan kedua protein target namun genistein mempunyai angka clearance yang rendah sehingga kemungkinan terjadinya akumulasi didalam darah dan bersifat toksik lebih besar, adapun delphinidin mempunyai angka absorpsi yang rendah sehingga efektifitas menjadi lebih rendah bila diberikan secara oral.

Hasil penelitian ini didukung oleh penelitian yang dilakukan Damayanti, 2019 menyebutkan genistein dapat mengaktifkan reseptor Alfa esterogen di otak, selanjutnya akan mengaktifasi sintesa asetilkolinergik yang bersifat eksitasi dari neuron sehingga fungsi neuron untuk memori menjadi normal²⁰. Hasil penelitian lainnya secara *in silico* didapatkan 4 senyawa aktif biji kacang merah yang mempunyai potensi sebagai anti-Alzheimer dengan mengaktifkan alfa sekretase dan menghambat beta sekretase yaitu beta sitosterol, delphinidin, genistein, dan biokanin A²⁸.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan analisa data yang didapatkan dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Memiliki 5 senyawa aktif kacang merah (*Phaseolus vulgaris*) yakni Beta sitosterol, sianidin, glisitein, biokanin A, dan genistein yang diprediksi berpotensi tinggi mencegah Alzheimer dengan mengaktifasi protein SIRT-1 dan memiliki nilai yang baik pada parameter fisikokimia dan farmakokinetik.
2. Memiliki 5 senyawa aktif kacang merah (*Phaseolus vulgaris*) yakni beta sitosterol, biokanin A, genistein, glisitein, dan formononetin yang diprediksi berpotensi tinggi mencegah Alzheimer dengan mengaktifasi

protein SIRT-1 dan memiliki nilai yang baik pada parameter fisikokimia dan farmakokinetik.

3. Beta Sitosterol memiliki bioavailabilitas yang baik jika dikonsumsi secara oral sehingga dapat menjadi kandidat kuat obat pencegahan Alzheimer melalui aktivasi SIRT-1 dan NRF2.

SARAN

Berdasarkan penelitian ini perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan melakukan penelitian secara *in vivo* terhadap tikus model Alzheimer dengan mekanisme aktivasi SIRT-1, NRF2, beta sekretase, dan inhibisi alfa sekretase.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih disampaikan kepada IOM dan FK Unisma untuk pendanaan penelitian ini dan dr Rahma Trilliana, M. Kes, PhD sebagai *peer reviewer* atas dukungan dan arahnya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Turana, Y., Fashihah, I., & Imelda, T. (2021). Panduan Praktis Pendampingan Lansia Alzheimer saat pandemi covid. Indonesia: Alzheimer Indonesia.
2. Acosta, D., & Wortmann, M. (2009). World Alzheimer Reports in 2009. *Alzheimer International*, 1–92.
3. Lee, J. T., & Gu, W. (2013). SIRTUIN-1: p53 Regulator Deacetylations. *Gene and Cancer*, 4(3–4), 112–117.
4. Kim, K. M., & Ki, S. H. (2017). Nuclear Releating Factor-2: A Key Regulators of Redoks Signaling Liver Disease. *Liver Pathophysiology: Therapies and Antioxidant* (pp. 355–374). *Elsevier*.
5. D. Dr. Duke Phytochemical and Ethnobotanical Database Chemicals founds in *Chimaphila umbellata*. 2000; 1–4.
6. Hirohata M, Ono K, Takasaki J ichi, *et al*. Anti amyloidogenic effect of soybean isoflavone *invitro*: Fluorescences spectroscopy demonstrated direct binding to Amiloid β monomer. *Biochemical et Biophysica Acta Molecular Basis of Disease*. 2012; 1822(8): 1316–24. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbadis.2012.05.006>
7. Tiwari S, Atluri V, Kaushik A, *et al*. Alzheimer: Pathogenesis, diagnostic, and therapeutic. *International Journal of Nanomedicines*. 2019;14:5541–54. Duke
8. Wedret JJ, Pharmacist S, Clinical A. Managing Alzheimer's Disease. 2021;1–14.
9. Joshi A, Upadhyay H, Parekh K. Drug prescriptions pattern in patients with

- Alzheimer in an urban Drug prescription patterns in patients with Alzheimer in an urban Neurospeciality clinic in India. 2019.
10. Hardjono S. Sintesa Dan Uji Aktivitas Pencegahan kanker Senyawa 2-Klorobenzoiloksi Urea Dan 4-Klorobenzoiloksi Urea. **Berkala Ilmiah Kimia Farmasi**. 2013;2(1):16–21.
 11. Ekowati J, Diyah NW, Nofianti KA, *et al*. Molecular docking of ferulic acid on P2Y₁₂ receptor with ADME and Toxicity predictions. **Journal of Mathematical and Fundamental Sciences**. 2018;50(2):203–19.
 12. Febriantara, S., Ruslin, & Yamin. (2014). Studi In Silico Senyawa 2-amino-5(4-hydroxy-3,5-dimethoxy- benzoyl) asam pantotenik sebagai penghambat Phospodiesterase. **Majalah Farmasi, Sains, Dan Kesehatan**, 2(1), 22–26.
 13. Prayoga Pannindriya. ANALISIS KANDUNGAN SENYAWA AKTIF TUMBUHAN SAMBILOTO (*Andrographis paniculata*) TERHADAP RESEPTOR HISTAMIN SEBAGAI PENCEGAHAN TUKAK LAMBUNG SECARA IN SILICO. 2021.
 14. Quadros Gomes, B. A., Bastos Silva, J. P., Rodrigues Romeiro, *et al*. (2018). Neuroprotective resveratrol mechanism in Alzheimer: Role of SIRTUIN-1. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/8152373>
 15. Pedrini S, Carter TL, Prendergast G, *et al*. Statin Modulation activating shedding of Alzheimer ectodomain by ROCK. **PLoS Medicine**. 2005;2(1):0069–78.
 16. Kocahan S, Doğan Z. Alzheimer’s disease mechanism, pathogenesis and prevention: The brain, neuropathology, and tau protein. **Clinical Psychopharmacology and Neuroscience**. 2017;15(1):1–8.
 17. Casili, G., Lanza, M., Filipone, A., *et al*. (2020). Dimethylfumarate (DMF) alleviated nitroglycerin induced migraine in mice. **Journal of Neuroinflammation**, 17(1), 1–16.
 18. Sudarlin S. Theoretical Modification of Cyanidin as Sensitizer in Dye Sensitized Solar Cell Using Rhodanine Acetic Acid in Electron Withdrawing Group. **Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia**. 2019. Apr 30;4(1):34.
 19. Arrasyid, M. A. A., Damayanti, D. S., & Lestari, R. D. (2018). Studi In Silico
 29. Patel, K., Jain, A., & Patel, D. K. (2013). Medicinal significances, pharmacological activities, and analytical aspect of ‘delphinidin’: A concise report. **Journal of Acute Disease**, 2(3), 169–178.
 - Senyawa Aktif Ekstrak Rimpang Jahe Emprit (*Zingiber officinale* Rosc .) terhadap Inhibisi Asetilkolinesterase, Beta Tubulin dan Aktivasi Kanal Ca sebagai Antihelmintik. East Java, 147–158.
 20. Timmers M, van Broeck B, Ramael S, *et al*. Profiling the dynamic of CSF and plasma Amiloid β reductions after treatments with potent oral BACEinhibitor. **Alzheimer: Translational Research and Clinical Intervention**. 2016;2(3):202–12.
 21. Ye J, Li L, Hao Q, Qin Y, *et al*. Beta Sitosterol treatments attenuate cognitive deficit and prevent Amiloid β plaque deposition in amyloid protein precursor. 2020;24(1):39–46.
 22. Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W. (2012). Experimental and computational approach to estimated solubility and permeability in drug discovery settings. **Advanced Drug Delivery Review**, 64(SUPPL.), 4–17.
 23. Mubarika, S. A. Z., Damayanti, D. S., & Dewi, A. R. (2020). Studi In Silico Potensi Anti-helmintik Senyawa Aktif Bawang putih (*Allium sativum* L.) dalam Menghambat Protein Target Acetylcholinesterase, β -tubulin dan Aktivasi Voltage dependent. 83–93.
 24. Pires, D. E. V, Blundell, T. L., & Ascher, D. B. (2015). pkCSM: predicting small molecule pharmacokinetics properties using graphbased signatures (How to Enterpret pkCSM Result). **PKCSM**, 5.
 25. Erhirhie EO, Ihekwereme CP, Ildigwe EE. Advance in acute toxicity testing: strength, weakness, and regulatory acceptances. **Interdiscip Toxicol**. 2018;11(1):5-12. doi:10.2478/intox-2018-0001
 26. Damayanti, D. S. (2020). Potency of Vigna angularis against ER α through *in silico* studies. **Jurnal Kesehatan Islam**. 9(2), 49–54.
 27. Hidayatullah, J. A., Damayanti, D. S., & Widiyana, A. P. (2022). Studi In Silico: Analisis Potensi Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris*) sebagai Anti-Alzheimer dengan Aktivasi Alfa sekretase dan Penghambatan Beta Sekretase. 9(1)
 28. Babu, S., & Jayaraman, S. (2020). An update on Beta sitosterol: A potential herbal nutraceuticals for diabetes mellitus management. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, 131(2020), 110702.
 30. Widowati, W., Prahastuti, S., Ekayanti, N. L. W., *et al*. (2019). Black Soybean Extract and Its Compound Anti-Inflammation Assays on Lipopolysaccharide-Induced.

- Journal of Physics: Conference Series**, 1374(1).
31. Iside, C., Scafuro, M., Nebbioso, A., *et al.* (2020). SIRTUIN-1 Activation by Natural Phytochemical: An Overview. **Frontiers in pharmacology**, 11, 1225.
32. He, F., Ru, X., & Wen, T. (2020). Nuclear Releating Factor 2, a Transcriptions Factor for Stress Response. **International journal of molecular sciences**, 21(13), 4777.

