

Studi *In Silico* Senyawa Aktif Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) .) pada *Aldose Reductase* dan *Glutathione Reductase* untuk Menghambat Katarak Diabetik

Shafwatul Fida, Ariani Ratri Dewi, Dini Sri Damayanti*

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

ABSTRAK

Pendahuluan: Patofisiologi katarak diabetik berkaitan dengan akumulasi sorbitol dijalur poliol dengan peningkatan aktivitas enzim *Aldose Reductase* (AR) dan penurunan enzim *Glutathione Reductase* (GR) di lensa. Akumulasi intraseluler dari sorbitol memicu perubahan osmotik yang menghasilkan serat lensa hidrofik yang berdegenerasi dan membentuk katarak diabetik. Daun sirsak memiliki kandungan aktif golongan flavonoid, alkaloid dan tanin yang bermanfaat sebagai antidiabetes dan antioksidan. Mekanisme senyawa aktif daun sirsak sebagai terapi preventif katarak diabetik belum diketahui. Penelitian ini dilakukan untuk melihat bioavailabilitas dari senyawa aktif etanol dari daun sirsak sebagai kandidat obat dalam inhibisi AR dan aktivasi GR secara *in silico*.

Metode: Tahapan penelitian ini terbagi menjadi dua yaitu memprediksi afinitasnya terhadap AR dan GR melalui *docking server* dengan *Epalrestat* dan *Ascorbid acid* sebagai kontrol, serta memprediksi sifat fisikokimia (*Lipinski Rule of five*) dan farmakokinetik ADMET melalui *pkCSM online tool*.

Hasil: Berdasarkan nilai ΔG (energi ikatan bebas), K_i (konstanta inhibisi), ikatan hidrogen pada residu asam amino dan luas interaksi permukaan, diperoleh senyawa aktif daun sirsak yang memiliki afinitas tinggi terhadap AR dibandingkan kontrol *Epalrestat* adalah *Annoionol A*, *Chlorogenic acid*, *Coclaurine*, *Coreximine*, dan *Quercetin 3-O-rutinoside*. Senyawa yang mempunyai afinitas tinggi dibandingkan kontrol *Ascorbid acid* ialah *Quercetin 3-O-rutinoside*, *Kaempferol 3-O-rutinoside*, *Annoionoside*, *Stepharine*, dan *Xylopine*. Senyawa aktif yang memiliki kemiripan dengan kontrol *Epalrestat* maupun *Ascorbid acid* dengan memenuhi *Lipinski Rule of Five*, diabsorpsi baik di intestinal, tidak menembus *blood brain barrier*, dimetabolisme dan di ekskresikan sempurna, serta tidak bersifat hepatotoksik ialah *Epicatchine*, *Quercetin*, *Anonaine*, *Annoionol A*, *Annoionol B*, dan *Vomifoliol*.

Kesimpulan: Senyawa aktif daun sirsak diprediksi memiliki afinitas yang tinggi terhadap penghambatan enzim AR dan aktivasi enzim GR, dan juga diprediksi memiliki bioavailabilitas tinggi, mudah diabsorpsi dan berpotensi sebagai kandidat obat baru.

Kata Kunci : *Annona muricata* L., *Aldose Reductase*, *Glutathione Reductase*, Katarak Diabetik, *In silico*

*Penulis Korespondensi: dinisridamayanti@unisma.ac.id, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang
Jl. MT Haryono 193 Malang, Jawa Timur Indonesia 65144, Telp (+62) 341578920

In-Silico Study of Active Compound of Soursop Leaf (*Annona muricata* L.) on *Aldose Reductase* and *Glutathione Reductase* for Inhibiting Diabetic Cataracts

Shafwatul Fida, Ariani Ratri Dewi, Dini Sri Damayanti*

Faculty of Medicine, University of Islam Malang

ABSTRACT

Introduction: Diabetic cataract formation is initialized by the accumulation of sorbitol from the polyol pathway due to increased *Aldose Reductase* (AR) activity and decreased *Glutathione Reductase* (GR) activity in lenses. Accumulation of sorbitol causes osmotic changes resulting in hydropic lens fibers that degenerates and then form diabetic cataracts. Soursop leaves contains active compounds like flavonoids, tannins, and alkaloids which are efficacious as antidiabetics and antioxidants. However, their mechanism as a preventive therapy for diabetic cataracts is unknown. This study was conducted to determine the bioavailability of active compounds from soursop leaf ethanol extract as a drug candidate in inhibiting the AR and activating the GR *in silico*.

Method: The research was divided into two stages: predicting of their affinity for AR and GR via *docking server* with *Epalrestat* and *Ascorbid acid* as controls, respectively, and the prediction of physicochemical (*Lipinski Rule of five*) and pharmacokinetics of ADMET via *pkCSM online tool*.

Result: Based on free bond energy (ΔG), Inhibition constant (K_i), hydrogen bonding on amino acid residues, and surface interaction area, the compounds that have high affinity for AR compared to *Epalrestat* control are *Annoionol A*, *Chlorogenic acid*, *Coclaurine*, *Coreximine*, and *Quercetin 3-O-rutinoside*. The compounds with a high affinity for GR compared to *Ascorbid acid* control are *Quercetin 3-O-rutinoside*, *Kaempferol 3-O-rutinoside*, *Annoionoside*, *Stepharine*, and *Xylopine*. Active compounds that have similarities with *Epalrestat* and *Ascorbid acid* controls by fulfilling the *Lipinski Rule of five* are well absorbed in the intestine, do not penetrate blood brain barrier, are completely metabolized and excreted, and are not hepatotoxic, namely *Epicatchine*, *Quercetin*, *Anonaine*, *Annoionol A*, *Annoionol B*, and *Vomifoliol*.

Conclusion: Soursop leaf active compounds are predicted to have a high affinity for inhibition of AR enzyme and activation of GR enzyme, and are also predicted to have high bioavailability, easy absorption and potential as new drug candidates

Keywords : *Annona muricata* L., *Aldose Reductase*, *Glutathione Reductase*, Katarak Diabetik, *In silico*

*Author Correspondence: dinisridamayanti@unisma.ac.id, Faculty of Medicine, University of Islam Malang
Jl. MT Haryono 193 Malang, Jawa Timur Indonesia 65144, Phone (+62) 341578920

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) ialah kondisi metabolisme kronis yang ditandai dengan hiperglikemia¹. Kondisi tersebut dapat menimbulkan komplikasi makrovaskular dan mikrovaskular. Salah satu komplikasi makrovaskular DM adalah katarak². Sekitar 77,7% kebutaan di Indonesia penyebab utamanya ialah katarak, dan pasien DM dapat beresiko 5 kali lipat lebih awal mengalami katarak^{3,4}. Katarak Diabetik adalah terhalangnya cahaya masuk ke retina karena lensa mata yang mengalami kekeruhan akibat komplikasi dari DM⁵.

Mekanisme kejadian katarak pada pasien DM berkaitan dengan kondisi stres osmotik, stres oksidatif dan glikasi non enzimatis pada lensa⁶. Stres osmotik terjadi akibat penumpukan sorbitol oleh aktivitas enzim *Aldose Reductase* (AR) yang dipicu oleh kondisi hiperglikemia. Akumulasi sorbitol akan menciptakan *hyperosmotic effect* yang menghasilkan infusi cairan untuk menyeimbangkan gradien osmotik, sehingga perubahan osmotik tersebut menghasilkan serat lensa hidropik yang berdegenerasi dan membentuk katarak diabetik⁷. Penumpukan sorbitol menyebabkan stres pada *Retikulum Endoplasma* (RE) yang memicu terbentuknya *Reactive Oxygen Species* (ROS) dan mengakibatkan jaringan lensa mengalami stres oksidatif⁸. Peningkatan produksi sorbitol juga berkaitan dengan penurunan *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphat* NADPH dan *glutathione* (GSH), sehingga aktivitas dari enzim *glutathione reduktase* (GR) menurun. Enzim GR dengan NADPH berfungsi mengubah *Glutathione disulfide* (GSSG) menjadi GSH. *Glutathione* (GSH) adalah antioksidan enzimatis yang merupakan pertahanan terhadap senyawa oksigen reaktif pada lensa mata^{9,10}.

Penatalaksanaan definitif katarak adalah operasi. Operasi katarak pada pasien DM memerlukan perhatian khusus baik sebelum ataupun sesudah operasi karena adanya resiko komplikasi pasca operasi seperti *posterior capsular opacity*, *macular edema* dan perburukan *diabetic retinopathy*¹⁰. Akhir-akhir ini mulai dikembangkan farmakologi preventif untuk katarak, terutama untuk katarak diabetik, yaitu pemberian Vitamin C, Vitamin E, dan karotenoid sebagai antioksidan¹¹, serta *Aldose Reductase Inhibitor* (ARI) seperti epalrestat, sorbinil dan renirestat⁷.

Di Indonesia, pemanfaatan tanaman herbal sebagai obat sudah banyak digunakan, salah satunya tanaman sirsak (*Annona muricata* L.), dan hampir semua bagian tanaman tersebut bisa dimanfaatkan, terutama bagian daun sirsak¹². Daun sirsak memiliki kandungan aktif flavonoid, polifenol, alkaloid, dan tanin yang berpotensi sebagai antioksidan dan antidiabetes^{13,14}. Rahman dkk (2014) membuktikan bahwa efek antioksidan dari kandungan ekstrak etanol daun sirsak yaitu flavonoid, tanin dan alkaloid berpotensi menurunkan kadar MDA (*malondialdehyde*) pada

tikus model DM yang diinduksi aloksan¹⁵. Flavonoid dan polifenol juga diketahui berfungsi sebagai preventif komplikasi DM dengan membersihkan radikal bebas, memutuskan rantai reaksi radikal bebas, mengikat ion logam (*chelating*), dan blokade enzim AR di jalur poliol¹⁶. Penelitian daun sirsak sebagai antioksidan untuk diabetes sudah banyak dilakukan, namun penelitian mengenai manfaatnya pada diabetes dengan katarak belum banyak dilakukan, oleh karena perlu penelitian untuk melihat potensi aktivitas antioksidan senyawa aktif ekstrak etanol daun sirsak yang diharapkan mampu menjadi alternatif preventif komplikasi katarak pada penderita DM.

Berdasarkan uraian diatas, penelitian ini dilakukan untuk memprediksi mekanisme senyawa aktif daun sirsak sebagai antioksidan untuk mencegah katarak diabetik. Penelitian terdiri dari 2 tahap yaitu menentukan afinitas senyawa aktif ekstrak etanol terhadap enzim AR dan GR yang berperan dalam proses terjadinya katarak pada pasien DM dengan *molecular docking* secara komputasi. Tahap kedua adalah memprediksi sifat fisikokimia, farmakokinetik dan toksisitas dari senyawa aktif ekstrak etanol daun sirsak dengan studi *in silico*.

Studi *in silico* (komputasi) dipilih karena memiliki keunggulan efisiensi biaya, waktu, serta merupakan langkah awal untuk prediksi mekanisme kerja suatu senyawa dalam menimbulkan efek farmakologis. Penentuan afinitas senyawa aktif daun sirsak terhadap enzim AR dan GR menggunakan *docking server* dengan pendekatan *specific docking*, sedangkan untuk prediksi sifat fisikokimia, farmakokinetik ADMET (absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi dan toksisitas) menggunakan *software pkCSM online tools*. Obat yang digunakan sebagai kontrol adalah *Ascorbic acid* dan *Epalrestat*.

METODE

Riset ini dikerjakan secara studi *in silico* yang terbagi menjadi dua tahapan yakni *molecular docking* dengan *docking server*, serta prediksi fisikokimia, dan farmakokinetik ADMET dengan *pkCSM online tools*, yang mana bertujuan dalam memprediksi potensi senyawa aktif ekstrak etanol daun sirsak sebagai preventif antioksidan pada katarak diabetik dalam mekanismenya menghambat enzim AR dan aktivasi enzim GR. Penelitian dilaksanakan pada bulan April sampai Mei 2021 di Prodi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran UNISMA.

Alat dan Bahan

Penelitian ini menggunakan *hardware* berupa laptop spesifikasi Lenovo Yoga 330, *Intel* N4000 1.1 GHz, *Windows* 10 Home x64, koneksi internet dan *software*: *SMILES* (<http://cactus.nci.nih.gov/translate/>), *pkCSM online tool* (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsml/prediction>),

dan autodock 4.0 docking server (<http://www.dockingserver.com>).

Sejumlah 20 senyawa aktif ekstrak etanol daun sirsak yang digunakan ialah data GC-MS (*Gas chromatography – mass spectrometry*) dari penelitian Moghadamtousi *et al* (2015) diantaranya Flavonol Triglycosides (FTG) yaitu: *Epicatechine*, *Quercetin*, *Quercetin 3-O-Rutinosid*, *Quercetin 3-O-Neohispredoside*, *Quercetin 3-O-Robinoside*, *Quercetin 3-O-Glucoside*, *Chlorogenic Acid*, *Kaempferol 3-O-Rutinoside*; Alkaloids (ALKs) yaitu: *Anonaine*, *Anomuricine*, *Xylopine*, *Reticuline*, *Coclaurine*, *Coreximine*, *Stepharine*; dan Megastigmanes (MGs) yaitu: *Annoionol A*, *Annoionol B*, *Annoionoside*, *Vomifoliol*, dan *Roseoside*.

Struktur 3D dari senyawa aktif diatas, obat kontrol Epalrestat (CID : 1549120) dan *Ascorbid acid* (CID : 54670067) diunduh dari situs Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dengan format *.sdf. Struktur 3D dari enzim AR (PDB ID: 2HV5) dan enzim GR (PDB ID: 3DJG) diunduh dalam file *pdb** dari situs *Protein Data Bank* (PDB) (<https://www.rcsb.org/>).

Molecular Docking

Struktur 3D dari senyawa aktif daun sirsak, Epalrestat dan *Ascorbid acid* yang berupa file *.sdf diubah ke file *.pdb sebagai ligan. Struktur 3D enzim AR dan GR format file *.pdb merupakan protein target. Masing-masing file diunggah ke menu *my ligan* dan *my protein* pada *docking server*, lalu dimulai penambatan pada menu *start docking*. Penambatan molekul pertama yaitu prediksi afinitas senyawa aktif daun sirsak dan Epalrestat terhadap enzim AR, dilanjutkan prediksi senyawa aktif daun sirsak dan *Ascorbid acid* terhadap enzim GR.

Prediksi Sifat Fisikokimia dan Farmakokinetik ADMET

Struktur 3D dari senyawa aktif daun sirsak, Epalrestat dan *Ascorbid acid* yang berbentuk file *.sdf diterjemahkan ke format SMILES melalui *Online SMILES Translator*. Kode SMILES digunakan untuk prediksi fisikokimia dan farmakokinetik (ADMET) di *pkCSM online tool*. Senyawa aktif daun sirsak diharapkan memiliki sifat fisikokimia berupa nilai permeabilitas tinggi dengan pemenuhan *Lipinski rule of five* serta

memiliki profil farmakokinetik ADME yang baik yaitu dapat diabsorpsi di intestinal, dimetabolisme dan diekskresikan dengan sempurna dan tidak bersifat toksik.

Teknik Analisis Data

Analisis hasil *docking* dengan 4 indikator yaitu nilai energi ikatan bebas (ΔG), konstanta inhibisi (K_i), ikatan hidrogen pada residu asam amino, dan luas interaksi permukaan¹⁸. Analisis hasil fisikokimia memakai *Lipinski rule of five* yaitu berat molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktanol/air ($\log P$), *Hydrogen Bond Donor* (HBD), dan *Hydrogen Bond Acceptor* (HBA)¹⁹, sedangkan analisis hasil farmakokinetik ADMET yaitu absorpsi intestinal, permeabilitas Caco2, *Volume Distribusi at Steady State* (VDSS), *Blood Brain Barrier* (BBB), CYP2D6 dan CYP3A4 inhibitor, *Total Clearance* (CLTOT), serta toksisitas berupa hepatotoksik²⁰.

HASIL DAN ANALISA DATA

Hasil Molecular Docking Senyawa Aktif Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap Enzim Aldose Reductase

Hasil *docking* antara kontrol Epalrestat dengan protein target AR pada Tabel 5.1, didapatkan nilai ΔG -8,78 kcal/mol; nilai K_i 363,71 μ M; jumlah residu asam amino yang terbentuk dari ikatan tersebut ada 14 yaitu, LYS21, ASP216, TYR209, TRP20, TYR48, CYS298, PRO211, SER214, LEU212, LYS262, HIS110, ASP43, GLN183, dan PRO215, serta 1 ikatan hidrogen yaitu LYS21; dengan nilai interaksi permukaan sebesar 700.668 Å. Dapat disimpulkan bahwa Epalrestat memiliki nilai afinitas yang tinggi atau baik terhadap protein target AR.

Berdasarkan keempat kriteria diatas, maka diperoleh 5 dari 20 senyawa aktif ekstrak etanol daun sirsak yang mempunyai nilai afinitas tinggi terhadap protein target AR, dari yang terbesar yaitu *Annoionol A*, *Chlorogenic acid*, *Coclaurine*, *Coreximine*, dan *Quercetin 3-O-rutinoside*. Visualisasi residu asam amino dari senyawa aktif daun sirsak dan Epalrestat terhadap protein target AR ditunjukkan pada **Gambar 5.1**.

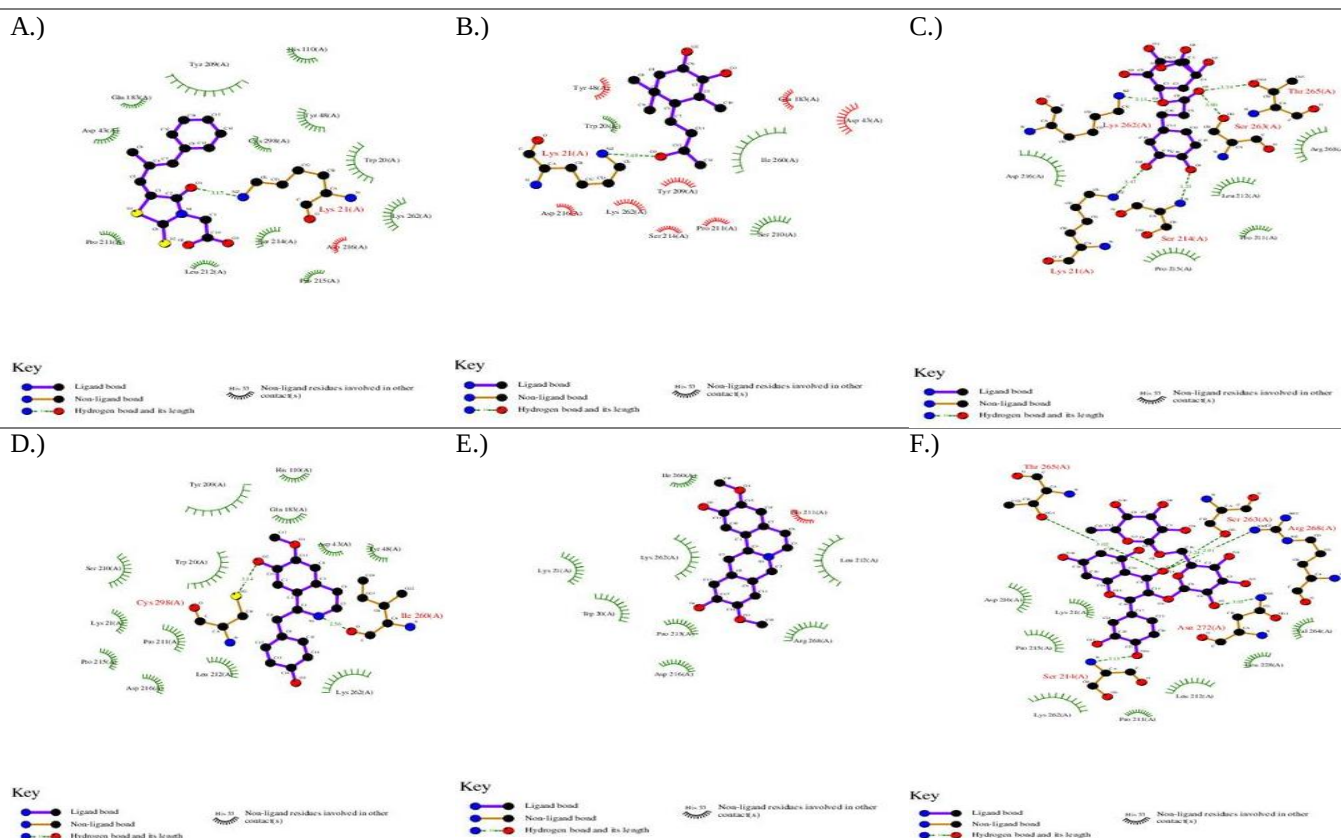
Tabel 5.1 Hasil Uji Molecular Docking Senyawa Aktif Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan Epalrestat terhadap Enzim Aldose Reductase

Nama Senyawa (Ligan)	Energi Ikatan Bebas (kcal/mol)	Konstanta Inhibisi (uM)	Residu Asam Amino	Kesamaan Residu Asam Amino yang Terikat Dibanding Kontrol	Kesamaan Ikatan Hidrogen Dibanding Kontrol	Interaksi Permukaan (Å)
Epalrestat (Kontrol)	-8.78	363.71	Ikatan hidrogen: LYS21 Polar: ASP216 Kation-pi:- Hidrofobik: TYR209, TRP20, TYR48, CYS298, PRO211 Lain-lainnya: SER214, LEU212, LYS262, HIS110, ASP43, GLN183, PRO215	100%	100%	700.668
Quercetin 3-O-	- 9.40	127.81	Ikatan hidrogen: ARG268, SER263	21%	0	804.124

neohesperidosi de			Polar: LYS262, ASP216 Kation-pi:- Hidrofobik: PRO215 Lain-lainnya: LYS21, VAL264, PRO23			
Coclaurine	- 7.60	2.69	Ikatan hidrogen: ILE260, CYS298 Polar: SER210, TYR48 Kation-pi: TYR209 Hidrofobik: TRP20, LEU212, PRO215 Lain-lainnya: LYS262, GLN183, LYS21, ASP216, HIS110, ASP43, PRO211	93%	0	687.158
Coreximine	-7.45	3.49	Ikatan hidrogen: - Polar: ARG268, LYS262, LYS21 Kation-pi: TRP20 Hidrofobik: PRO215, LEU212, ILE260, PRO211 Lain-lainnya: ASP216	50%	0	748.871
Quercetin 3-O- rutinoside	-7.38	3.88	Ikatan hidrogen: ARG268, SER263, SER214, THR265, ASN272 Polar: LYS262, ASP216, LYS21 Kation-pi: - Hidrofobik: LEU212, PRO215, LEU228 Lain-lainnya: VAL264, PRO211	50%	0	867.552
Annoionol A	-7.25	4.89	Ikatan hidrogen: LYS21 Polar: ASP216, SER214, TYR48, GLN183, Kation-pi: TYR209 Hidrofobik: ILE260, PRO211, TRP20 Lain-lainnya: LYS262, ASP43, SER210	71%	100%	583.238
Chlorogenic acid	-7.00	7.43	Ikatan hidrogen: LYS262, LYS21, SER263, SER214, THR265 Polar: ARG268 Kation-pi: - Hidrofobik: PRO215, LEU212 Lain-lainnya: ASP216, PRO211	50%	100%	647.448
Kaempferol 3- O-rutinoside	-6.84	9.69	Ikatan hidrogen: ARG268, SER263, SER214, THR265, ASN272 Polar: ASP216, LYS262 Kation-pi: - Hidrofobik: PRO215, LEU212, LEU228 Lain-lainnya: VAL264, ALA245, PRO211	43%	0	870.123
Vomifoliol	-6.84	9.64	Ikatan hidrogen: - Polar: GLN183, HIS110, SER159 TYR48 Kation-pi: TYR209, TRP20 Hidrofobik: TRP111, CYS298, ILE260 Lain-lainnya: LYS77, LYS262, ASP43, SER210, ASN160	57%	0	568.233
Quercetin 3-O- glucoside	-6.76	11.05	Ikatan hidrogen: ARG268, LYS262, VAL264 Polar: SER263, ASN272, GLU271, THR243 Kation-pi: - Hidrofobik: LEU228, PRO215, ALA245, LEU212 Lain-lainnya: ASP216	28%	0	745.061
Reticuline	-6.43	19.30	Ikatan hidrogen: LYS262 Polar: ARG268, LYS21 Kation-pi: - Hidrofobik: LEU212, LEU228, PRO215, ALA245 Lain-lainnya: ASN272, SER214, SER210, PRO211, ASP216, GLU271, SER263	43%	0	772.39
(+)- Anomuricine	-6.29	24.63	Ikatan hidrogen: LYS262 Polar: ARG268 Kation-pi: - Hidrofobik: PRO215, PRO211 LEU212 Lain-lainnya: ASP216, LYS21	43%	0	735.992
Quercetin 3-O- robinobioside	-6.24	26.73	Ikatan hidrogen: LYS262 Polar: ARG268, THR265 Kation-pi: - Hidrofobik: PRO215 Lain-lainnya: ASP216, SER263, VAL264, PRO218	21%	0	804.843
Quercetin	-6.14	31.61	Ikatan hidrogen: - Polar: ASP216, ARG268, THR243, ASN272, LYS262, GLU271, LYS21 Kation-pi: - Hidrofobik: LEU228, ALA245, PRO215 Lain-lainnya: -	28%	0	636.877
Anonaine	-6.12	32.62	Ikatan hidrogen: ASN272 Polar: ARG268, GLU271 Kation-pi: - Hidrofobik: LEU228, LEU212, ALA245, PRO215 Lain-lainnya: SER263	14%	0	602.179
Annoionol B	-5.83	52.90	Ikatan hidrogen: SER210, HIS110, LYS262 Polar: TYR48, SER214, ASP43	57%	0	583.463

Kation-pi: - Hidrofobik: TYR209 , ILE260, TRP20 Lain-lainnya: GLN183						
Epicatechine	-5.55	85.42	Ikatan hidrogen: LYS262 , LYS21 , VAL264 Polar: ARG268, SER263, SER214 , THR264, ASN272 Kation-pi: - Hidrofobik: LEU212 Lain-lainnya: PRO215 , ASP216 , PRO211	50%	100%	617.553
Stepharine	-5.48	96.34	Ikatan hidrogen: ASN272 Polar: ARG268, LYS262 , ASP216 Kation-pi: - Hidrofobik: LEU212 , LEU228, ALA245 Lain-lainnya: PRO215 , GLU271	21%	0	674.773
Xylopine	-5.34	120.89	Ikatan hidrogen: ASN272 Polar: ARG268, ASP216 Kation-pi: - Hidrofobik: LEU212 , LEU228, PRO215 , ALA245 Lain-lainnya: LYS262 , GLU271	38%	0	661.636
Roseoside	-5.25	141.24	Ikatan hidrogen: ASN272 Polar: ARG268 Kation-pi: - Hidrofobik: PRO215 , LEU212 , LEU228 Lain-lainnya: ASP216 , LYS262 , SER263, ALA245	28%	0	696.307
Annoionoside	-5.13	172.27	Ikatan hidrogen: LYS262 Polar: ARG268, SER263, ASN272 Kation-pi: - Hidrofobik: PRO215 , LEU212 , LEU228, VAL264 Lain-lainnya: ASP216 , THR265, ALA245	28%	0	673.768

Keterangan: Data yang ditampilkan merupakan hasil *molecular docking* dari 20 senyawa aktif ekstrak etanol daun sirsak terhadap *Aldose Reductase*(AR) dibandingkan kontrol Epalrestat. *Molecular docking* menggunakan pendekatan *specific docking* sehingga sisi aktif di tentukan dari residu asam amino yang terikat oleh kontrol.



Gambar 5.1 Interaksi antara senyawa aktif daun sirsak dan epalrestat dengan *Aldose Reductase* diperoleh 5 terbaik dari 20 senyawa zat aktif yang memiliki afinitas tertinggi ditinjau dari 4 parameter penelitian yaitu (A)Epalrestat (Kontrol); (B)Annoionol A; (C)Chlorogenic Acid; (D) Coclaurine; (E) Coreximine; (F) Quercetin 3-O-Rutinoside. Visualisasi *docking* menggunakan *Drug Discovery Study*.

Hasil *Molecular Docking* Senyawa Aktif Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap Enzim *Glutathione Reductase*

Hasil *docking* antara kontrol *Ascorbid acid* dengan protein target GR (Tabel 5.2), diperoleh nilai ΔG -4,82 kcal/mol; nilai K_i 292,77 μM ; jumlah residu asam amino yang terbentuk dari ikatan tersebut ada ada 4 yaitu, THR57, SER30,

THR339, dan ALA342, memiliki 3 ikatan hidrogen yaitu THR57, SER30, dan THR339; serta nilai interaksi permukaan sebesar 700.668 Å. Maka dapat diprediksi bahwa afinitas dari kontrol *Ascorbid acid* terhadap protein target GR ialah baik atau afinitasnya tinggi. Berdasarkan keempat kriteria diatas, maka diperoleh 5 dari 20 senyawa

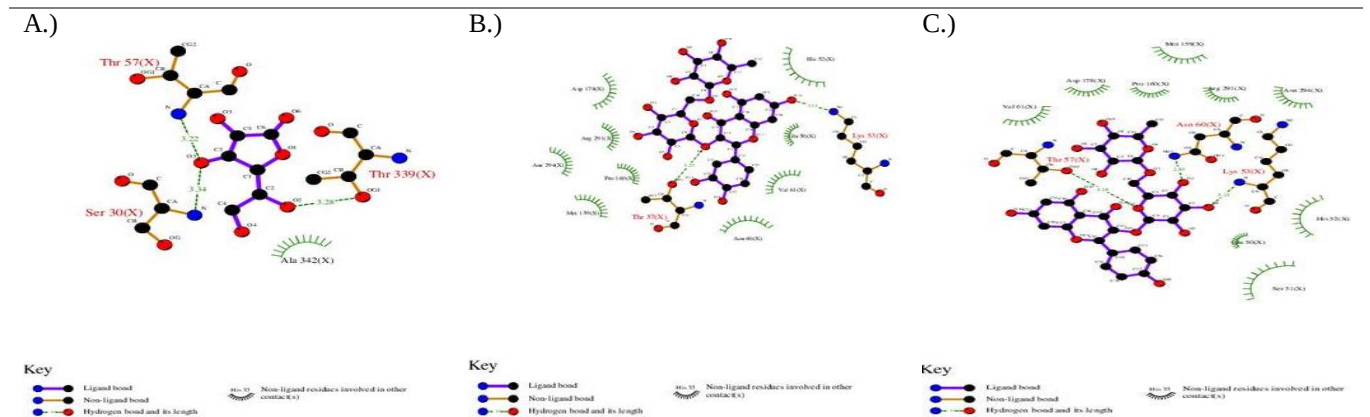
aktif ekstrak etanol daun sirsak yang memiliki nilai afinitas tinggi terhadap protein target GR berurutan yaitu *Quercetin 3-O-rutinoside*, *Kaempferol 3-O-Rutinoside*, *Annoionoside*, *Stepharine*, dan *Xylopine*. Visualisasi residu asam amino dari senyawa aktif daun sirsak dan *Ascorbid acid* terhadap protein target GR terdapat pada **Gambar 5.2**.

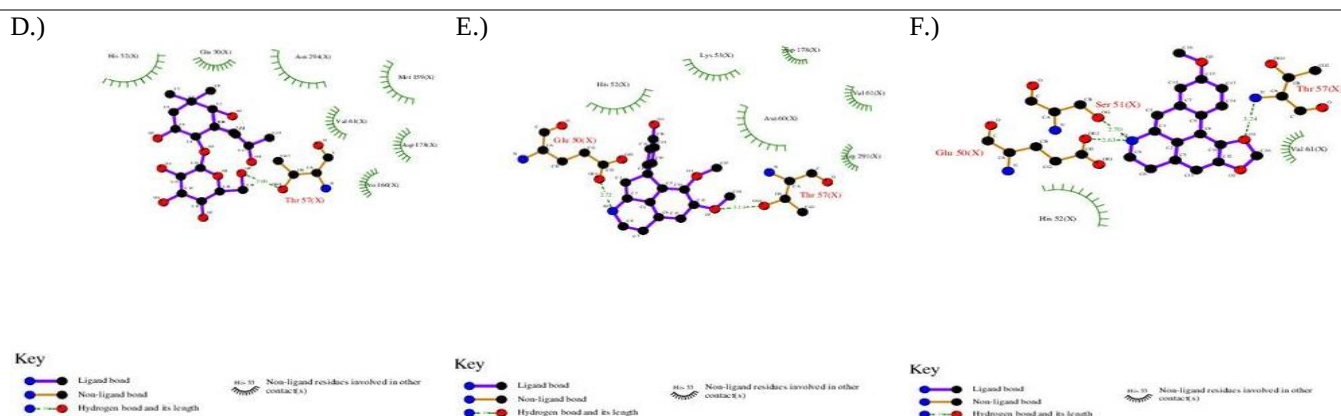
Tabel 5.2 Hasil Uji *Molecular Docking* Senyawa Aktif Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dan *Ascorbid acid* terhadap Enzim *Glutathion Reductase*

Nama Senyawa (Ligan)	Energi Ikatan Bebas (kcal/mol)	Konstanta Inhibisi (uM)	Residu Asam Amino	Kesamaan Residu Asam Amino yang Terikat Dibanding Kontrol	Kesamaan Ikatan Hidrogen Dibanding Kontrol	Interaksi Permukaan (Å)
Ascorbid acid (Kontrol)	-4.74	336.71	Ikatan hidrogen: THR57, SER30, THR339 Polar: - Kation-pi: - Hidrofobik: - Lain-lainnya: CYS58, ALA342	100%	100%	439.346
Quercetin 3-O-rutinoside	-8.99	259.18	Ikatan hidrogen: THR57, LYS53 Polar: HIS52, GLU50, ARG291, ASP178, Kation-pi: - Hidrofobik: MET159, VAL61 Lain-lainnya: ASN60, ASN294, PRO160	20%	33%	912.44
Quercetin 3-O-robinobioside	-8.88	310.15	Ikatan hidrogen: - Polar: ASN294, HIS52, ASP178, GLU50, Kation-pi: - Hidrofobik: VAL61, MET159 Lain-lainnya: THR57, THR156, ARG291, PRO160	20%	0	922.344
Quercetin 3-O-neohesperidoside	-8.70	417.45	Ikatan hidrogen: - Polar: GLU50, ASN294, HIS52, ASP178, SER51 Kation-pi: - Hidrofobik: MET159, PRO160 Lain-lainnya: LYS53, ASN60, VAL61, THR156	0%	0	947.463
Roseoside	- 8.06	1.23	Ikatan hidrogen: THR57 Polar: GLU50, ASN294 Kation-pi: - Hidrofobik: HIS52 Lain-lainnya: ASN60, LYS53	20%	0	796.971
Kaempferol 3-O-rutinoside	-8.02	1.31	Ikatan hidrogen: ASN60, LYS53, THR57 Polar: SER51, HIS5, ASN294, GLU50, ASP178, ARG291 Kation-pi: - Hidrofobik: VAL61, MET159 Lain-lainnya: PRO160	20%	33%	918.997
Annoionoside	-7.79	1.93	Ikatan hidrogen: THR57 Polar: HIS52, ASN294, ASP178 Kation-pi: - Hidrofobik: VAL61, MET159 Lain-lainnya: GLU50, ASN60, PRO160, LYS53, THR156	20%	33%	800.22
Quercetin 3-O-glucoside	-7.53	3.03	Ikatan hidrogen: - Polar: ASP178, ASN294, GLU50, THR57, SER51 Kation-pi: HIS52 Hidrofobik: MET159, VAL61 Lain-lainnya: THR156, ILE26	20%	0	848.128
Chlorogenic acid	-7.17	5.56	Ikatan hidrogen: LYS66, CYS63, GLY31 Polar: GLU201 Kation-pi: - Hidrofobik: TYR197, LEU338, ALA342 Lain-lainnya: ASP331, THR339, THR57, ILE198, SER30, LEU337	80%	0	860.052
Stepharine	-7.13	5.91	Ikatan hidrogen: THR57, GLU50 Polar: ARG291 Kation-pi: - Hidrofobik: HIS52, VAL61 Lain-lainnya: ASN60, LYS53, ASP3178	20%	33%	683.804
Coreximine	-7.05	6.79	Ikatan hidrogen: ALA155 Polar: THR339, GLU50, SER51 Kation-pi: HIS52 Hidrofobik: ALA342 Lain-lainnya: THR57, SER30, ASP331	80%	0	790.222

Xylopine	-7.03	6.98	Ikatan hidrogen: THR57 , SER51, GLU50 Polar: HIS52 Kation-pi: - Hidrofobik: VAL61 Lain-lainnya:-	20%	33%	710.744
(+)-Anomuricine	-6.92	8.53	Ikatan hidrogen: CYS63, ASP331 Polar: LYS66 Kation-pi: - Hidrofobik: LEU338, ALA342 Lain-lainnya: THR339 , THR57 , LEU337, GLU201	60%	0	886.929
Anonaine	-6.85	9.56	Ikatan hidrogen: LYS53, GLU50 Polar: THR57 Kation-pi: HIS52 Hidrofobik: VAL61 Lain-lainnya: ASN60, ASP178	20%	0	618.811
Quercetin	-6.69	12.44	Ikatan hidrogen: ASP331, THR339 Polar: THR57 , GLU50 Kation-pi: - Hidrofobik: - Lain-lainnya: CYS63, ALA342	40%	33%	671.167
Coclaurine	-6.49	17.48	Ikatan hidrogen: THR57 , GLU50 Polar: SER51, ASP178 Kation-pi: HIS52 Hidrofobik: - Lain-lainnya: ASN294, VAL61	20%	33%	739.24
Reticuline	-6.32	23.43	Ikatan hidrogen: ASP178 Polar:- Kation-pi: - Hidrofobik: PRO160, MET159 Lain-lainnya: THR57 , ASN294, GLU50	20%	0	813.528
Annoionol A	-5.91	46.47	Ikatan hidrogen: ASP178 Polar:- Kation-pi: - Hidrofobik: PRO160, MET159 Lain-lainnya: THR57 , ASN294, GLU50	20%	0	647.649
Vomifolol	-5.49	95.09	Ikatan hidrogen: - Polar: THR339 , ASP331, SER30 Kation-pi: - Hidrofobik: CYS63, ALA342 Lain-lainnya: THR57	60%	0	581.773
Epicatechine	-5.11	180.54	Ikatan hidrogen: ARG291 Polar: ASN294, THR57 , GLU50, ASN60 Kation-pi: - Hidrofobik: HIS52, VAL61 Lain-lainnya: THR156, SER51, LYS53, MET159	20%	0	664.858
Annoionol B	-5.11	179.18	Ikatan hidrogen: THR57 Polar: SER30 , GLU50 Kation-pi: HIS52 Hidrofobik:- Lain-lainnya: ASN294	40%	33%	650.024

Keterangan: Data yang ditampilkan merupakan hasil *molecular docking* dari 20 senyawa aktif ekstrak etanol daun sirsak terhadap *Glutathione Reductase* (GR) dibandingkan kontrol *Ascorbic acid*. *Molecular docking* menggunakan pendekatan *specific docking*, sehingga sisi aktif ditentukan dari residu asam amino yang terikat oleh kontrol





Gambar 5.2 Interaksi antara senyawa aktif daun sirsak dan *Ascorbid acid* dengan *Glutathion Reductase* (GR) diperoleh 5 terbaik dari 20 senyawa zat aktif yang memiliki afinitas tertinggi ditinjau dari 4 parameter penelitian yaitu (A) *Ascorbid acid* (Kontrol); (B) *Quercetin 3-O-Rutinoside*; (C) *Kaempferol 3-O-Rutinoside*; (D) *Annoionoside*; (E) *Stepharine*; (F) *Xylopine*. Visualisasi docking menggunakan *Drug Discovery Study*.

Hasil Prediksi Sifat Fisikokimia dan Farmakokinetik ADMET Senyawa Aktif Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dengan *pKCSM Online Tool*

Berdasarkan hasil sifat fisikokimia dengan indikator *Lipinski rule of five* pada **Tabel 5.3**, didapatkan bahwa kontrol Epalrestat memenuhi kriteria hukum Lipinski. Pada prediksi profil farmakokinetik **Tabel 5.4**, diperoleh kontrol

Epalrestat memiliki profil farmakokinetik ADMET yang baik, namun diduga bersifat hepatotoksik.

Adapun hasil fisikokimia kontrol *Ascorbid acid* pada **Tabel 5.3** ialah memenuhi hukum lima Lipinski. Pada prediksi profil farmakokinetik **Tabel 5.4**, kontrol *Ascorbid acid* secara keseluruhan memiliki profil farmakokinetik ADMET yang baik serta tidak bersifat hepatotoksik.

Tabel 5.3 Hasil Prediksi Sifat Fisikokimia (*Lipinski Rule of Five*) dari Senyawa Aktif Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Menggunakan *pKCSM Online Tool*

Nama Senyawa	Parameter <i>Lipinski rule of five</i>						Penerapan <i>Lipinski rule of five</i>
	BM	LogP	ROTB	HBA	HBD	PSA	
Epalrestat (kontrol)	321.423	2.1285	5	4	2	131.964	Ya
Ascorbid acid (kontrol)	176.124	-1.4074	2	6	4	67.321	Ya
Epicatechine	290.271	1.5461	1	6	5	119.662	Ya
Quercetin	302.238	1.988	1	7	5	122.108	Ya
Quercetin 3-o neohesperidoside	610.521	-1.6871	6	16	10	240.901	Tidak
Quercetin 3-O robinobioside	610.521	-1.6871	6	16	10	240.901	Tidak
Quercetin 3-O-glucoside	464.379	-0.5389	4	12	8	183.901	Tidak
Quercetin 3-o-rutinoside	610.521	-1.6871	6	16	10	240.901	Tidak
Chlorogenic acid	354.311	-0.6459	4	8	6	141.587	Tidak
Kaempferol 3-o-rutinoside	594.522	-1.3927	6	15	9	236.106	Tidak
Anonaine	265.312	2.8252	0	3	1	117.073	Ya
Anomuricine	329.396	2.8475	5	5	2	141.722	Tidak
Xylopine	295.338	2.8338	1	4	1	128.551	Ya
Reticuline	329.396	2.8867	4	5	2	141.613	Tidak
Coclaurine	285.343	2.5359	3	4	3	123.559	Ya
Coreximine	327.38	2.7705	2	5	2	140.607	Tidak
Stepharine	297.354	2.2272	2	4	1	129.352	Ya
Annoionol A	230.348	1.5514	3	3	3	98.495	Ya
Annoionol B	244.331	0.4423	2	4	1	102.600	Ya
Annoionoside	406.472	-1.7335	5	9	7	164.394	Tidak
Vomifoliol	224.3	1.5998	2	3	2	96.484	Ya
Roseoside	386.441	-0.576	5	8	5	158.277	Tidak

Keterangan: Data yang ditampilkan merupakan hasil uji prediksi sifat fisikokimia dari 20 senyawa aktif ekstrak etanol daun sirsak dengan kontrol eplarestat dan *ascorbid acid*, yang menggunakan parameter *Lipinski rules of five* diantaranya BM (Berat Molekul) <500; Log P (Koefisien Partisi) <5; ROTB (rotatable bonds) <10; HBD (hydrogen bond donor) < 5; HBA (hydrogen bond acceptor) < 10, dan polar surface activity (PSA) <140 Å.

Tabel 5.4 Hasil Prediksi Farmakokinetik (ADMET) dari Senyawa Aktif Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Menggunakan *pKCSM Online Tool*

Nama senyawa	Absorbtion		Distribusi		Metabolisme		Eksresi	Toksistas
	Absorbsi pada usus	Permeabilitas Caco-2	Vdss (Log)	BBB (log BB)	CYP 2D6	CYP 3A4	Total Clearance	Hepatotoksik

	(%)	(Log Ppap in 10-6 cm/s)	L/Kg)		inhibitor	inhibit or	(log ml/min/kg)	
Epalrestat (Kontrol)	92.707	0.879	-0.524	0.032	Tidak	Tidak	0.17	Ya
Ascorbid acid (Kontrol)	39.716	-0.477	-0.156	-1.031	Tidak	Tidak	0.631	Tidak
Epicatechine	72.967	-0.523	0.082	-1.183	Tidak	Tidak	0.252	Tidak
Quercetin	76.171	-0.302	-0.144	-1.463	Tidak	Tidak	0.461	Tidak
Quercetin 3-0 neohesperidoside	20.704	-0.897	0.446	-2.078	Tidak	Tidak	-0.127	Tidak
Quercetin 3-0-robinobioside	32.633	-0.857	0.34	-1.756	Tidak	Tidak	-0.324	Tidak
Quercetin 3-0-glucoside	44.847	0.173	0.899	-1.539	Tidak	Tidak	0.435	Tidak
Quercetin 3-0-rutinoside	32.633	-0.857	0.34	-1.756	Tidak	Tidak	-0.324	Tidak
Chlorogenic acid	14.779	-0.731	-1.062	-1.416	Tidak	Tidak	0.335	Tidak
Kaempferol 3-0-rutinoside	33.829	-0.709	0.365	-1.561	Tidak	Tidak	-0.115	Tidak
Anonaine	92.188	1.362	0.849	0.702	Ya	Tidak	1.024	Tidak
Anomuricine	93.203	1.263	0.905	0.292	Ya	Tidak	1.108	Ya
Xylopine	95.403	1.31	1.249	0.265	Ya	Tidak	1.089	Ya
Reticuline	91.214	1.057	1.153	-0.02	Ya	Tidak	1.04	Tidak
Coclaurine	91.54	1.148	0.891	0.04	Ya	Tidak	1.091	Ya
Coreximine	93.388	0.845	1.329	-0.003	Ya	Tidak	1.21	Tidak
Stepharine	95.137	129.352	0.688	0.176	Tidak	Ya	1.082	Ya
Annoionol A	95.376	1.192	-0.239	-0.2	Tidak	Tidak	1.233	Tidak
Annoionol B	47.139	0.026	-0.304	-0.897	Tidak	Tidak	1.347	Tidak
Annoionoside	22.352	-0.055	0.369	-1.22	Tidak	Tidak	1.419	Tidak
Vomifoliol	95.514	1.242	-0.153	0.168	Tidak	Tidak	1.359	Tidak
Roseoside	36.411	-0.09	-0.09	-1.131	Tidak	Tidak	1.409	Tidak

Keterangan: Data yang ditampilkan merupakan hasil uji ADMET dari 20 senyawa aktif ekstrak etanol daun sirsak (*Annona muricata* L.) dengan kontrol eplarestat dan *ascorbid acid*. Parameter ADMET diantaranya Absorpsi pada usus, Permeabilitas Caco-2, *Vdss* (*Volume of Distribution at Steady State*), BBB (*Blood Brain Barrier*), CYP2D6 (Sitokrom P2D), CYP3A4 (Sitokrom 3A4), *Total Clearance*, dan hepatotoksik.

Berdasarkan hasil prediksi sifat fisikokimia dan farmakokinetik pada **Tabel 5.3** dan **Tabel 5.4**, didapatkan senyawa aktif ekstrak etanol daun sirsak yang memiliki sifat fisikokimia dengan pemenuhan *Lipinski rule of five* yaitu *Epicatechine*, *Quercetin*, *Anonaine*, *Xylopine*, *Coclaurine*, *Stepharine*, *Annoionol A*, *Annoionol B*, dan *Vomifoliol*, sedangkan yang memiliki profil farmakokinetik yang baik, dan tidak bersifat toksik yaitu *Epicatechine*, *Quercetin*, *Anonaine*, *Reticuline*, *Coreximine*, *Annoionol A*, *Annoionol B*, *Vomifoliol*, dan *Roseoside*.

PEMBAHASAN

Uji *Molecular Docking* Senyawa Aktif Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.)

Penentuan afinitas suatu senyawa terhadap protein target dengan penambatan molekul diperlukan beberapa indikator, antara lain energi ikatan bebas (ΔG), konstanta inhibisi (K_i), ikatan hidrogen pada residu asam amino dan luas interaksi permukaan. Menurut Damayanti *et al.*, (2017) nilai afinitas ikatan antara ligan-protein target dinyatakan tinggi jika nilai energi ikatan bebasnya kurang dari atau sama dengan -7 kcal/mol²¹. Nilai ΔG adalah indikator kestabilan dari ikatan ligan-

protein target, dimana interaksi ikatan tersebut akan cenderung berada pada keadaan energi yang paling rendah, dan menyebabkan suatu molekul berada pada kondisi yang stabil. Jika semakin rendah atau negatif nilai ΔG suatu molekul, maka interaksi ligan dengan protein target akan cepat membentuk konformasi yang stabil²².

Nilai K_i merupakan suatu nilai yang menunjukkan konsentrasi ligan dalam menghambat suatu enzim atau protein. Semakin rendah nilai K_i yang didapatkan maka akan semakin mudah suatu ikatan kompleks ligan-protein yang terbentuk dan semakin besar pula kemampuan ligan dalam penghambat protein target²³.

Interaksi dari suatu ligan-protein yang menghasilkan banyak ikatan residu asam amino menunjukkan bahwa ligan tersebut dapat menghambat aktivitas protein target. Pendekatan *molecular docking* dengan *specific docking* adalah untuk menunjukkan sisi aktif dari protein target berupa residu asam amino yang terikat oleh obat kontrol yang digunakan²⁴. Semakin banyak persamaan posisi ikatan senyawa aktif terhadap residu asam amino sisi aktif protein target dibandingkan kontrol, maka semakin mirip afinitas senyawa aktif dengan kontrol. Apabila jumlah ikatan hidrogen yang dihasilkan saat interaksi semakin banyak, maka semakin kuat afinitas obat

terhadap reseptor, sehingga suatu ligan yang memiliki ikatan hidrogen akan lebih stabil daripada ligan yang tidak memiliki ikatan hidrogen²⁵. Pada parameter interaksi luas permukaan dapat menilai potensial aktivitas biologis reaksi. Apabila nilai interaksi permukaan yang diperoleh semakin besar, maka ikatan antara ligan dan protein juga semakin kuat, sehingga aktivitas biologisnya semakin tinggi²⁶.

Aldose Reductase

Hasil penambatan molekul menunjukkan bahwa obat kontrol Epalrestat mempunyai afinitas tinggi terhadap inhibisi enzim AR. Senyawa aktif daun sirsak secara berurutan dari yang paling besar mempunyai afinitas terhadap enzim AR serta mendekati kontrol epalrestat adalah *Annoionol A*, *Chlorogenic Acid*, *Coclaurine*, *Coreximine*, dan *Quercetin 3-O-Rutinoside*.

Senyawa kandidat obat harus memiliki afinitas yang tinggi untuk berikatan dengan sisi aktif dari molekul protein atau enzim target. Penelitian ini menggunakan Epalrestat sebagai kontrol terhadap enzim AR. Epalrestat merupakan salah satu jenis ARI yang telah melalui tahap uji klinis akhir sebagai pengobatan komplikasi diabetes seperti katarak diabetes, dan sudah tersedia secara komersial di Jepang²⁷. *Aldose Reductase Inhibitor* (ARI) terdiri dari berbagai senyawa yang berbeda secara struktural seperti derivat fenolik, flavonoid, alkaloid dan sebagainya. Mekanisme ARI dalam mencegah katarak diabetes ialah menghambat penumpukan sorbitol oleh enzim AR di jalur poliol⁷.

Berdasarkan indikator nilai ΔG lebih kecil dari kontrol, mempunyai nilai K_i lebih kecil dari kontrol, memiliki presentase jumlah ikatan pada residu asam amino sisi aktif protein target mendekati nilai kontrol, dan nilai luas permukaan lebih besar dibandingkan kontrol, didapatkan senyawa aktif daun sirsak yang mempunyai afinitas terhadap enzim AR dari yang terbesar ialah *Annoionol A*, *Chlorogenic acid*, *Coclaurine*, *Coreximine*, dan *Quercetin 3-O-Rutinoside*. Dapat disimpulkan bahwa senyawa aktif daun sirsak diprediksi memiliki kemampuan seperti Epalrestat dalam menghambat enzim AR.

Penghambatan enzim AR oleh senyawa aktif daun sirsak yang mempunyai kemampuan sebagai ARI seperti Epalrestat bertujuan untuk mencegah peningkatan aktivitas jalur sorbitol (poliol) di jaringan lensa. *Aldose reductase* adalah enzim pertama di jalur poliol yang berfungsi mengkatalisis glukosa menjadi sorbitol dan merupakan salah satu enzim yang berperan menyebabkan komplikasi diabetes seperti katarak diabetik²⁸. Ketika aktivitas jalur sorbitol (poliol) dihambat, maka produksi sorbitol juga berkurang sehingga timbulnya stres osmotik, stres oksidatif, dan opasitas pada jaringan lensa akibat akumulasi sorbitol tidak terjadi. Tidak terjadinya stres osmotik juga akan menurunkan resiko terjadinya stress di retikulum endoplasma (RE), dimana stress RE yang

berkepanjangan dapat menginduksi *unfolded protein response* (UPR) dan menyebabkan apoptosis *lens epithelial cells* (LEC). UPR yang terinduksi juga akan menghasilkan ROS di LEC sehingga pencegahan induksi UPR tersebut dapat mencegah terpicunya stres oksidatif pada *lens fiber cell*²⁹.

Glutathione Reductase

Pada hasil *molecular docking* diperoleh bahwa obat kontrol *Ascorbid acid* memiliki afinitas tinggi dalam mengaktivasi enzim GR. Adapun senyawa aktif yang mempunyai afinitas mirip dengan *Ascorbid acid* terhadap enzim GR yaitu *Quercetin 3-O-Rutinoside*, *Kaempferol*, *3-O-Rutinoside*, *Annoionoside*, *Stepharine*, dan *Xylopine*.

Ascorbic acid dipilih sebagai kontrol terhadap enzim GR. *Ascorbic acid* (Vitamin C) adalah antioksidan non enzimatik yang memiliki mekanisme kerja sebagai donor elektron, sehingga mencegah senyawa lain mengalami oksidasi, *free radical scavenger* yang baik dan merupakan farmakologi antioksidan pada katarak diabetes³⁰.

Vitamin C meningkatkan aktivitas enzim GR dan menghambat enzim AR, dimana peningkatan aktivitas GR bersama NADPH (*nicotinamide adenine dinucleotide phosphate*) bertujuan untuk memproduksi glutathione tereduksi (GSH) di lensa sehingga dapat meminimalisir pembentukan AGEs pada jalur poliol. Aktivitas *glutathion redox cycle* akan meningkat dan peningkatan H_2O_2 , radikal hidroksil, lipid peroksida dan MDA yang merusak arsitektur lensa dapat dicegah³¹.

Berdasarkan indikator semakin kecil nilai ΔG dan nilai K_i dari kontrol, memiliki presentase jumlah ikatan pada residu asam amino sisi aktif protein target mendekati nilai kontrol, dan nilai luas permukaan lebih besar dibandingkan kontrol, maka senyawa aktif daun sirsak yang memenuhi indikator dan diprediksi memiliki afinitas tinggi terhadap aktivasi enzim GR seperti kontrol *Ascorbid acid* secara urut dari yang terbesar yaitu *Quercetin 3-O-Rutinoside*, *Kaempferol*, *3-O-Rutinoside*, *Annoionoside*, *Stepharine*, dan *Xylopine*. Potensi afinitas senyawa aktif daun sirsak terhadap enzim GR lebih rendah dibandingkan kontrol *Ascorbic acid*, karena kemampuan senyawa aktif daun sirsak yang berikatan dengan residu asam amino sisi aktif enzim GR lebih rendah dibandingkan kontrol.

Dapat disimpulkan bahwa senyawa aktif daun sirsak diprediksi memiliki kemampuan seperti *Ascorbic acid* dalam mengaktivasi enzim GR. Selain itu, kemampuan senyawa aktif daun sirsak dalam mengaktivasi enzim GR seperti *Ascorbic acid*, bertujuan dalam menurunkan penggunaan NADPH oleh jalur poliol dan mengkatalisis terbentuknya GSH yang berperan dalam menjaga kejernihan *lens fiber cell*. *Glutathione Reductase* (GR) merupakan enzim oksidoreduktase yang bergantung pada NADPH dalam mengkatalisis glutathione teroksidasi (GSSG) menjadi glutathion tereduksi (GSH)³¹. Pada jalur poliol enzim AR nantinya akan berkompetisi dengan enzim GR

dalam menggunakan NADPH sebagai kofaktor, sehingga peningkatan jalur poliol pada kondisi diabetes dapat memicu penurunan produksi GSH⁷. Aktivasi enzim GR oleh senyawa aktif daun sirsak diharapkan menurunkan penggunaan NADPH oleh jalur poliol dan dengan demikian mencegah akumulasi sorbitol yang akan menimbulkan katarak diabetik.

Prediksi Sifat Fisikokimia dan Farmakokinetik (ADMET) Senyawa Aktif Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) dengan *pkCSM Online Tool*

Diketahui bahwa hasil prediksi fisikokimia dari kontrol Epalrestat dan *Ascorbid acid* sama-sama memenuhi *Lipinski rule of five*. Menurut Lipinski *et al.*, 2012, suatu senyawa akan memiliki absorpsi atau permeabilitas yang tinggi apabila nilai berat molekul (BM) < 500 Da, nilai Log P < 5, *rotatable bonds* (ROTB) <10, *Hydrogen Bond Acceptor*(HBA) <10, dan *Hydrogen Bond Donor*(HBD) <5 dan *polar surface activity* (PSA)<140 Å.¹⁹. Analisis diatas dikenal sebagai hukum lima Lipinski karena kebanyakan nilainya kelipatan dari angka lima. Pemenuhan *Lipinski rule of five* bertujuan untuk mengetahui sifat fisikokimia suatu senyawa (ligan) dalam menentukan karakter hidrofobik atau hidrofiliknya untuk melalui membran sel oleh difusi pasif. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa kontrol Epalrestat dan *Ascorbid acid* bersifat larut dalam air sehingga mudah diabsorpsi di intestinal.

Senyawa aktif daun sirsak yang diketahui memenuhi kriteria Lipinski sama dengan kontrol Epalrestat maupun *Ascorbid acid* adalah *Epicatechine*, *Quercetin*, *Anonaine*, *Xylopin*, *Coclorine*, *Stepharine*, *Annoionol A*, *Annoionol B*, dan *Vomifoliol*, yang artinya semua senyawa tersebut diatas mempunyai sifat larut dalam air dan mudah diserap di intestinal.

Selain dilakukan prediksi sifat fisikokimia, prediksi farmakokinetik digunakan untuk memprediksi bioavailabilitas dan toksisitas dari senyawa aktif menggunakan ADMET. Secara farmakokinetik, Epalrestat diabsorpsi dengan baik di intestinal, dapat menembus BBB, dimetabolisme di hepar, dieksresikan melalui ginjal, dan bersifat hepatotoksik. Adapun farmakokinetik *Ascorbid acid* adalah diserap di intestinal dengan baik, tidak menembus BBB, dimetabolisme di hepar, dieksresikan di ginjal dan tidak bersifat hepatotoksik.

Senyawa aktif daun sirsak yang diprediksi memiliki kemiripan farmakokinetik dengan masing-masing kontrol Epalrestat dan kontrol *Ascorbid acid* adalah *Epicatechine*, *Quercetin*, *Anonaine*, *Anomuricine*, *Xylopin*, *Reticuline*, *Coclorine*, *Coreximine*, *Stepharine*, *Annoionol A*, *Annoionol B*, *Vomifoliol*, dan *Roseoside*. Senyawa *Anonaine*, *Anomuricine*, *Xylopin*, *Reticuline*, *Coclorine*, dan *Coreximine* memiliki CYP2D6 inhibitor, *stepharine* memiliki CYP3A4 inhibitor,

dan *Anomuricine*, *Xylopin*, *Coclorine* dan *Stepharine* bersifat hepatotoksik.

Prediksi farmakokinetik dievaluasi dari profil absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi dan toksisitasnya (ADMET). Suatu senyawa dinyatakan memiliki absorpsi yang baik jika nilai absorpsinya > 80% dan kurang baik apabila bernilai < 30%³², sedangkan untuk permeabilitas Caco2, suatu senyawa dikatakan memiliki permeabilitas Caco2 yang tinggi apabila nilai $P_{app} > 8 \times 10^{-6}$ cm/s, atau $P_{app} > 0,90$ pada aplikasi *pkCSM Online Tool*. Permeabilitas Caco2 atau permeabilitas sel lapis tunggal Caco2 sering dipilih sebagai prediksi penyerapan obat di mukosa usus yang diberikan secara oral pada model *in vitro*²⁰.

Pada profil distribusi, suatu senyawa dinyatakan memiliki volume distribusi yang tinggi apabila nilai Log VDSS > 0,45 dan rendah bila Log VDSS < -0,15²⁰. *Volume Distribusi at Steady State* (VDSS) ialah volume yang menunjukkan nilai suatu dosis total obat yang terdistribusikan secara menyeluruh dan memiliki konsentrasi seperti plasma darah. Selain itu suatu senyawa dapat menembus sawar otak bila nilai logBB >0,3 dan tidak dapat menembus jika log BB < -1. *Blood Brain Barrier* (BBB) digunakan untuk mengetahui kemampuan suatu obat menembus sawar otak, serta membantu mengurangi efek samping, toksisitas ataupun dapat meningkatkan khasiat obat yang memiliki tujuan pengobatan didalam otak^{20,33}.

Selanjutnya profil metabolisme merupakan proses perubahan obat secara kimiawi didalam tubuh yang nantinya akan membentuk suatu metabolit dan organ yang bertanggung jawab ialah hepar. Enzim yang berfungsi untuk detoksifikasi atau memetabolisme sebagian besar obat di hepar ialah enzim *cytochrom P450* (CYP)³². Adapun isoenzim CYP yang berperan dalam metabolisme obat yaitu CYP2D6 dan CYP3A4. Fungsi dari enzim CYP2D6 ialah memetabolisme obat dan zat xenobiotik didalam tubuh, sedangkan enzim CYP3A4 berperan hampir 50% memetabolisme obat, serta terdapat juga di usus halus dan ginjal³⁴. Interaksi inhibitor CYP dengan substratnya dapat memicu peningkatan kadar plasma atau bioavailabilitas, hal tersebut dapat menyebabkan aktivitas substrat meningkat sampai terjadinya efek samping yang tidak dikehendaki. Induktor atau zat yang menginduksi enzim CYP akan meningkatkan sintesis enzim tersebut dan interaksi induktor CYP dengan substratnya menyebabkan laju kecepatan metabolisme substrat meningkat³⁵.

Profil farmakokinetik ekskresi berupa *Total Clearance* adalah gabungan dari *Hepatic Clearance* (metabolisme di hepar dan empedu) dan *Renal Clearance* (ekskresi melalui ginjal) dimana berkaitan dengan bioavailabilitas, serta berfungsi dalam menentukan tingkat dosis untuk mencapai konsentrasi *steady-state*^{20,36}. Profil toksisitas pada suatu senyawa obat penting untuk diketahui, dimana toksisitas merupakan sifat obat yang cukup sulit untuk di skrining secara adekuat karena

sifatnya bisa spesifik ke organ, spesies atau melibatkan banyak faktor. Hepatotoksitas adalah manifestasi utama dari toksistas obat yang dipengaruhi oleh metabolismenya, dan menggunakan hepatosit sebagai skrining toksistas atau pendekatan yang dipilih dalam pengembangan obat³⁷.

Senyawa aktif daun sirsak diatas yang diketahui mempunyai profil farmakokinetik merupakan senyawa golongan flavonol triglycosides (FTG) untuk *quercetin* dan *epicatechine*, dan golongan megastigmanes (MGs) untuk *annoionol A*, *vomifoliol*, *annoionol B* dan *roseoside*. Kandungan senyawa herbal seperti flavonoid, tanin dan terpenoid sebagian besar mempunyai kelarutan air yang tinggi, sehingga sulit apabila melewati membran sel lipid. Profil farmakokinetik (ADMET) suatu senyawa herbal terhadap jaringan targetnya perlu diketahui untuk mengetahui bioavailabilitas dan efikasinya sebagai kandidat obat. Selain itu, berbagai faktor dapat mempengaruhi bioavailabilitas oral, distribusi, metabolisme dan eksresinya yaitu jenis kelamin, usia, penyakit dan faktor eksternal³⁷.

Tidak seperti kebanyakan obat kimia yang melibatkan komponen aktif tunggal (*single compound*) dengan satu protein target, obat herbal memiliki berbagai komponen aktif (*multiple compound*) dan bersifat holistik sehingga memungkinkan berinteraksi dengan beberapa protein target³⁸. Interaksi kombinasi dari obat *multiple compound* dapat menunjukkan efek meningkatkan (sinergis) atau efek antagonis. Maka dari interaksi tersebut, suatu obat herbal dapat meningkatkan atau menurunkan bioavailabilitas suatu protein target, dan dapat memiliki efek samping minimal atau bahkan bersifat toksik³⁹.

Dari uraian diatas dapat disimpulkan bahwa senyawa aktif daun sirsak *epicatechine*, *quercetin*, *anonaine*, *reticuline*, *coreximine*, *annoionol A*, *annoionol B*, *vomifoliol*, dan *roseoside* diprediksi mempunyai bioavailabilitas yang baik bila diberikan secara peroral sama dengan kontrol, namun perlu dilakukan penelitian lanjutan secara *in vivo* untuk mendapatkan gambaran menyeluruh mengenai kemampuan bioaktivitasnya dan adanya toksistas.

Dapat disimpulkan bahwasanya senyawa aktif daun sirsak diprediksi memiliki bioavailabilitas tinggi dan memiliki potensi sebagai terapi alternatif dengan mekanisme kerja yang sama seperti *Epalrestat* dan *Ascorbid acid* sebagai tatalaksana katarak diabetik. Selain itu, bioaktif daun sirsak memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan antidiabetes, dimana dibuktikan oleh penelitian Rahman dkk (2014) mengenai efek antioksidan dari kandungan ekstrak etanol daun sirsak yaitu flavonoid, tanin dan alkaloid, dengan menunjukkan kadar MDA di tikus diabetes yang diinduksi aloksan mengalami penurunan¹⁵. Hal tersebut membuktikan potensial antioksidan dari ekstrak etanol daun sirsak dapat mencegah komplikasi dari DM.

Penelitian daun sirsak sebagai antioksidan untuk diabetes sudah banyak dikerjakan, namun penelitian mengenai manfaat daun sirsak dalam mencegah katarak pada diabetes belum banyak dilakukan, maka dari itu perlu adanya penelitian *in vivo* untuk membuktikan bahwa senyawa aktif ekstrak etanol daun sirsak yang memiliki mekanisme kerja yang sama dengan seperti *Epalrestat* dalam menghambat enzim AR, dan *Ascorbid acid* terhadap aktivasi enzim GR serta diharapkan mampu menjadi alternatif preventif komplikasi katarak pada penderita DM.

KESIMPULAN

Dari uraian penelitian diatas, dapat disimpulkan bahwa :

1. Senyawa aktif ekstrak etanol daun sirsak yaitu *coclaurine*, *coreximine*, *quercetin* 3-O-*rutinoside*, *annoionol A*, dan *chlorogenic acid* mempunyai afinitas tinggi terhadap penghambatan protein target AR dan berpotensi lebih rendah dibandingkan kontrol.
2. Senyawa aktif ekstrak etanol daun sirsak yaitu *kaempferol* 3-O-*rutinoside*, *quercetin* 3-O-*rutinoside*, *annoionoside*, *xylopine* dan *stepharine* mempunyai afinitas tinggi terhadap aktivasi protein target GR dan berpotensi lebih rendah dibandingkan kontrol.
3. Senyawa aktif ekstrak etanol daun sirsak yaitu *epicatechine*, *quercetin*, *anonaine*, *reticuline*, *coreximine*, *annoionol A*, *annoionol B*, dan *vomifoliol* memiliki sifat fisikokimia (*Lipinski Rule Of Five*) dan profil farmakokinetik ADME terbaik dan bersifat non toksik dibanding senyawa aktif yang lain, sehingga senyawa aktif tersebut diprediksi mudah diabsorpsi, memiliki permeabilitas yang tinggi dan berpotensi sebagai kandidat obat.

SARAN

Dari hasil penelitian diatas, peneliti menyarankan beberapa penelitian lanjutan untuk perkembangan keilmuan, yaitu

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan secara *in vitro* dan *in vivo* yang membandingkan potensi farmakokinetik menghambat *aldose reductase* (AR) dan mengaktivasi *glutathion reductase* (GR) antara *single compound* dengan ekstrak kasar dari daun sirsak.
2. Perlu dilakukan penelitian secara *in vitro* dan *in vivo* terhadap senyawa aktif yang diketahui tidak memenuhi profil fisikokimia dan farmakokinetik namun potensinya tinggi terhadap enzim *aldose reductase* (AR) dan *glutathion reductase* (GR) sebagai preventif katarak diabetik dengan sediaan selain oral.
3. Perlu dilakukan penelitian lanjutan secara *in vitro* dan *in vivo* yang membandingkan toksistas antara *single compound* dengan ekstrak kasar dari daun sirsak.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada IOM dan FK UNISMA yang mendanai penelitian ini, dosen pembimbing, *peer reviewer*, tim pohon penelitian, serta berbagai pihak yang ikut membantu teraktualisasinya penelitian ini.

REFERENSI

- Goyal R, Jialal I. Diabetes Mellitus Type 2. *StatPearls - NCBI Bookshelf. StatPearls Publishing*, Treasure Island (FL); 2020. 1–12 p.
- Pham TB, Nguyen TT, Truong HT, Trinh CH, Du HNT, Ngo TT, et al. Effects of Diabetic Complications on Health-Related Quality of Life Impairment in Vietnamese Patients with Type 2 Diabetes. *Journal of Diabetes Research*. 2020;2020.
- Ismandari F. Infodatin Situasi Gangguan Penglihatan. Kementerian Kesehatan RI Pusat Data dan Informasi [Internet]. 2018; Available from: [https://pusdatin.kemkes.go.id/download.php?file=download/pusdatin/infodatin/infodatin-Gangguan-penglihatan-2018.pdf Diakses pada 18 Januari 2021]
- Kiziltoprak H, Tekin K, Inanc M, Goker YS. Cataract in diabetes mellitus. *World Journal of Diabetes*. 2019;10(3):140–53.
- Rizkawati, Iqbal M, Andriani, Hubungan Antara Kejadian Katarak Dengan Diabetes Melitus di Poli Mata RSUD Dr. Soedarso Pontianak. 2012.
- Lukitasari A. Katarak Diabetes. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*. 2011;11(1):42–7.
- Pollreis A, Schmidt-Erfurth U. Diabetic Cataract—Pathogenesis, Epidemiology and Treatment. *Journal of Ophthalmology*. 2010;2010:1–8.
- Handayani N, Pasenggo T, Vrieda WV. Hubungan Kadar HbA1c Dengan Reactive Oxygen Species Dalam Serum Darah Dan Gradasi Katarak Pada Pasien Katarak Dengan Diabetes Melitus. *Majalah Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya*. 2020;7:73–83.
- Kyselova Z, Stefek M, Bauer V. Pharmacological prevention of diabetic cataract. *Journal of Diabetes and its Complications*. 2004;18(2):129–40.
- Balducci, Stefano, Sacchetti, Massimo, Haxhi, Jonida, Orlando, Giorgio, D'Errico, Valeria, Fallucca, Sara, Menini, Stefano, Pugliese G. Physical Exercise as therapy for type II diabetes. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews* [Internet]. 2014;32(30):13–23. Available from: [http://libweb.anglia.ac.uk/ Diakses Pada 20 Januari 2021]
- Astari P. Katarak: Klasifikasi, Tatalaksana, dan Komplikasi Operasi. *CDK*. 2018;45(10):748–53.
- Iyos RN, Astuti PD. Pengaruh Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah. *Majority*. 2013;6(2):144–8.
- Handayani H, Sriherfyna FH. Ekstraksi Antioksidan Daun Sirsak Metode Ultrasonic Bath (Kajian Rasio Bahan: Pelarut dan Lama Ekstraksi). 2016;4(1):262–72.
- Indria CM. Pemeriksaan Flavonoid dan Polifenol serta Uji Aktivitas Antioksidan Teh Daun Sirsak Kemasan (*Annona muricata* Linn.) dengan Metode Dpph. *TALENTA Conference Series: Tropical Medicine (TM)*. 2018;1(1):277–83.
- Rahman S, Kosman R, Rahmaniar I. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Diabetes Melitus yang Diinduksi Aloksan dengan Parameter Malondialdehid (MDA). *As-syifaa Fakultas Farmasi Universitas Muslim Indonesia*. 2014;06(01):34–42.
- Sasmita FW, Susetyarini E, Husamah H, Pantiwati Y. Efek Ekstrak Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*) terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Alloxan. *Biosfera*. 2017;34(1):22.
- Moghadamtousi SZ, Fadaeinasab M, Nikzad S, Mohan G, Ali HM, Kadir HA. *Annona muricata* (Annonaceae): A review of its traditional uses, isolated acetogenins and biological activities. *International Journal of Molecular Sciences*. 2015;16(7):15625–58.
- Pratama MRF. Studi Docking Molekular Senyawa Turunan Kuinolin Terhadap Reseptor Estrogen. *Jurnal Surya Medika*. 2016;2(1):1–7.
- Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2012;64(SUPPL.):4–17.
- Hariz MF. Uji Sitotoksik, Toksisitas, dan Prediksi Sifat Fisikokimia Senyawa Isoliquiritigenin dan Oxyresveratrol Terhadap Reseptor B-Sel Lymphoma 2 (4AQ3) dan Vaskular Endotelial Growth Factor Reseptor-2 (2RL5) Sebagai Terapi Kanker Servis Secara In Silico. *Universitas Islam Negeri Malang*; 2019.
- Damayanti DS, Utomo DH, Kusuma C. Revealing the potency of *Annona muricata* leaves extract as FOXO1 inhibitor for diabetes mellitus treatment through computational study. *In Silico Pharmacology*. 2017;5(1):1–7.
- Arwansyah, Ambarsari L, Sumaryada TI. Simulasi Docking Senyawa Kurkumin Dan Analognya Sebagai Inhibitor Enzim 12-Lipoksigenase. *Current Biochemistry*. 2014;1(in silico):36–9.
- Nurfitriyana F. penambatan molekuler beberapa

- senyawa xanton dari tanaman. Universitas Indonesia; 2010.
24. Damayanti DS, Nurdiana, Chandra Kusuma HMS, Soeatmadji DW. The potency of soursop leaf water extract on activating GLP-1R, inhibiting DPP4 and FOXO1 protein based on in silico analysis. *International Journal of Applied Pharmaceutics*. 2019;11(Special Issue 6):72–9.
 25. Zhao H, Huang D. Hydrogen bonding penalty upon ligand binding. *PLoS ONE*. 2011;6(6).
 26. Rohmah MK. Studi In Silico Kompleks Ligand-Reseptor Eugenol Daun Basil (*Ocimum Basilicum* L.) dengan Reseptor HER2 Pada Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) dengan Kontrol Gefitinib. *Jurnal Ilmiah Medicamento*. 2017;3(2):71–8.
 27. Singh Grewal A, Bhardwaj S, Pandita D, Lather V, Singh Sekhon B. Updates on Aldose Reductase Inhibitors for Management of Diabetic Complications and Non-diabetic Diseases. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. 2015;16(2):120–62.
 28. Devi A, Reddy ABM, Yadav UCS. Aldose Reductase Inhibitors in the Functional Foods: Regulation of Diabetic Complications. *Functional Food and Human Health*. 2018.
 29. Mulhern ML, Madson CJ, Kador PF, Randazzo J, Shinohara T. Cellular osmolytes reduce lens epithelial cell death and alleviate cataract formation in galactosemic rats. *Molecular Vision*. 2007;13(June):1397–405.
 30. Padayatty SJ, Katz A, Wang Y, Eck P, Kwon O, Lee JH, et al. Vitamin C as an Antioxidant: Evaluation of Its Role in Disease Prevention. *Journal of the American College of Nutrition*. 2003;22(1):18–35.
 31. Agte V, Gite S. Diabetic Cataract and Role of Antiglycating Phytochemicals [Internet]. Handbook of Nutrition, Diet and the Eye. Elsevier; 2014. 131–140 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-401717-7.00014-9>
 32. Octavia N. Determination of Physicochemical Properties and Cytotoxic Activity of Gendarusin A-E Compounds Against Estrogen Alpha Receptors (2JF9) on Breast Cancer In Silico. Skripsi. 2019;
 33. Ekowati J, Diyah NW, Nofianti KA, Hamid IS, Siswandono. Molecular docking of ferulic acid derivatives on P2Y12 receptor and their ADMET prediction. *Journal of Mathematical and Fundamental Sciences*. 2018;50(2):203–19.
 34. Setiawan A. Analisis In Silico Inhibisi Sitokrom P450 3A4 Oleh Senyawa Golongan Inhibitor HIV-Protease Dengan Teknik Molecular Docking. 2009;
 35. Gitawati R. Interaksi Obat dan Beberapa Implikasinya. Media Litbang Kesehatan [Internet]. 2008;XVIII No 4. Available from: <https://media.neliti.com/media/publications/160648-ID-none.pdf> Diakses Pada 15 Januari 2021]
 36. Krihariyani D, Haryanto E, Sasongkowati R, Woelansari ED. Studi Insilico Aktivitas Antioksidan dan ADMET Brazilein Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) terhadap *Escherichia Coli* Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL). Prosiding Seminar Nasional Kesehatan, Poltekkes Kemenkes Surabaya. 2019;251–7.
 37. Li AP. Screening for human ADME/Tox drug properties in drug discovery. *Drug Discovery Today*. 2001;6(7):357–66.
 38. Hilal A, Syahrir N, Mochamad Afendi F, Susetyo B. Efek Sinergis Bahan Aktif Tanaman Obat Berbasis Jejaring dengan Protein Target. *Jurnal Jamu Indonesia*. 2016;1(1):35–46.
 39. Sun S, Wang Y, Wu A, Ding Z, Liu X. Influence Factors of the Pharmacokinetics of Herbal Resourced Compounds in Clinical Practice. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 2019;2019.