

## Analisis *Molecular Docking* Senyawa Aktif Tanaman Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus* B.) terhadap Reseptor *Carbonic Anhydrase II* sebagai Kandidat Obat Antihipertensi

Ginayanti Hadisoebroto<sup>1</sup>, Syulastris Effendi<sup>1</sup>, Yunita Al Azzahra<sup>2\*</sup>, Lusi Fermata Sari<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Al- Ghifari, Indonesia

<sup>2</sup> Program Studi Farmasi, Akademi Farmasi Bumi Siliwangi, Indonesia; e-mail: [al.azzahra7@gmail.com](mailto:al.azzahra7@gmail.com)

**Abstrak:** Hipertensi merupakan kondisi patologis yang ditandai oleh peningkatan tekanan darah melebihi batas normal, yaitu tekanan sistolik  $\geq 140$  mmHg dan diastolik  $\geq 90$  mmHg. Salah satu mekanisme yang dapat digunakan untuk menurunkan tekanan darah adalah dengan menghambat enzim *carbonic anhydrase II* (CA-II). Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi potensi senyawa aktif dalam tanaman kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* B.) sebagai kandidat obat antihipertensi melalui pendekatan *in silico* menggunakan metode *molecular docking*. Proses *docking* dilakukan melalui beberapa tahapan, meliputi preparasi ligan dan reseptor CA-II, validasi metode, *docking* antara senyawa uji dan reseptor, serta visualisasi interaksi molekuler. Parameter yang dianalisis dari hasil *docking* mencakup energi ikatan, konstanta inhibisi (Ki), dan interaksi residu asam amino aktif. Hasil studi menunjukkan bahwa senyawa *Damascenone* memiliki potensi tertinggi sebagai kandidat antihipertensi, dengan nilai energi ikatan sebesar  $-6,91$  kcal/mol dan Ki sebesar  $8,57$   $\mu$ M, yang mendekati nilai dari ligan *native*, yaitu furosemid. Selain itu, *Damascenone* menunjukkan profil farmakokinetik dan toksikologi yang baik berdasarkan analisis ADMET (Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi, dan Toksisitas). Kemiripan pola interaksi hidrogen *Damascenone* dengan furosemid mendukung prediksi bahwa senyawa ini berpotensi menghasilkan efek antihipertensi yang sebanding melalui penghambatan terhadap reseptor CA-II.

**Kata kunci:** *Orthosiphon stamineus* B; *in silico*; *molecular docking*; *carbonic anhydrase II*; Furosemid; antihipertensi

**Abstract:** Hypertension is a pathological condition characterized by elevated blood pressure exceeding normal limits, specifically systolic pressure  $\geq 140$  mmHg and diastolic pressure  $\geq 90$  mmHg. One mechanism to reduce blood pressure is through the inhibition of the enzyme *carbonic anhydrase II* (CA-II). This study aims to explore the potential of active compounds in the medicinal plant *Orthosiphon stamineus* B. as antihypertensive drug candidates using an *in silico* approach through *molecular docking* methods. The docking process involved several stages, including ligand and CA-II receptor preparation, method validation, docking of the test compounds with the receptor, and visualization of molecular interactions. Parameters analyzed from the docking results included binding energy, inhibition constant (Ki), and interactions with active site amino acid residues. The results indicated that *Damascenone* demonstrated the highest potential as an antihypertensive candidate, with a binding energy of  $-6.91$  kcal/mol and an inhibition constant (Ki) of  $8.57$   $\mu$ M, values comparable to the native ligand, furosemide. Furthermore, *Damascenone* exhibited favorable pharmacokinetic and toxicological properties based on ADMET (Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, and Toxicity) analysis. The similarity in hydrogen bonding patterns between *Damascenone* and furosemide supports the prediction that *Damascenone* may exert a comparable antihypertensive effect through CA-II receptor inhibition.

**Keywords:** *Orthosiphon stamineus* B; *in silico*; *molecular docking*; *carbonic anhydrase II*; Furosemid; antihypertensive

eISSN 2776-3161

© 2021 Penulis. Di bawah lisensi CC BY-SA 4.0. Ini adalah artikel Akses Terbuka yang didistribusikan di bawah ketentuan Creative Commons Attribution (CC BY), yang mengizinkan penggunaan, distribusi, dan reproduksi tanpa batas dalam media apa pun, selama penulis dan sumber aslinya disebutkan. Tidak diperlukan izin dari penulis atau penerbit.

## 1. Pendahuluan

Hipertensi merupakan kondisi patologis yang ditandai oleh peningkatan tekanan darah melebihi batas normal, yaitu tekanan sistolik  $\geq 140$  mmHg dan diastolik  $\geq 90$  mmHg. Penyakit hipertensi dikenal sebagai *the silent disease*, hal tersebut karena penderita tidak menyadari bahwa dirinya menderita penyakit hipertensi sebelum dilakukan pemeriksaan tekanan darah (Novian 2013).

Hipertensi dapat dibagi menjadi bentuk primer dan sekunder. Hipertensi primer merupakan penyebab sebagian besar ( $\geq 90\%$ ) kasus, biasanya terjadi pada masyarakat menengah kebawah dengan aktivitas fisik yang cukup rendah, maka dari itu lingkungan menjadi potensi penyebabnya. Hipertensi sekunder diidentifikasi sekitar 10% kasus, penyebab spesifik yang terkadang dapat diperbaiki dan bisa akurat didiagnosis serta diobati. Pasien dengan hipertensi sekunder dapat mencapai normalisasi tekanan darah atau peningkatan yang nyata dalam pengendalian tekanan darah dan juga pengurangan risiko kardiovaskular (Carey *et al.* 2018).

Salah satu cara menurunkan hipertensi yaitu dengan penghambatan *carbonic anhydrase II* dimana itu termasuk enzim dari keluarga karbonat anhidrase (Roumeliotis and Roumeliotis 2020). Inhibisi terhadap enzim *carbonic anhydrase* menghambat proses reabsorpsi bikarbonat oleh sel-sel tubulus ginjal, sehingga menyebabkan akumulasi bikarbonat di dalam lumen tubulus. Konsekuensi dari mekanisme ini adalah peningkatan kadar bikarbonat dalam urin yang mengarah pada alkalisasi urin, serta penurunan konsentrasi bikarbonat dalam darah yang mengakibatkan kondisi asidosis metabolik ringan. Efek diuretik yang ditimbulkan dari proses ini meningkatkan ekskresi cairan tubuh, yang pada akhirnya berkontribusi terhadap penurunan tekanan darah (Aslam and Gupta 2023).

*Orthosiphon stamineus* umumnya dikenal sebagai kumis kucing atau misai kucing. *Orthosiphon stamineus* banyak ditanam di Asia Tenggara dan negara-negara tropis. Teh Jawa adalah sebutan untuk daun kumis kucing, di Asia Tenggara dan negara-negara Eropa biasanya digunakan dalam pembuatan teh herbal yang umum (Kamran, Sultan, and Adam 2018). Secara tradisional daun tanaman kumis kucing ini telah lama dimanfaatkan dalam pengobatan berbagai penyakit, terutama dalam praktik pengobatan herbal seperti antihipertensi, antialergi, antiinflamasi, antioksidan dan diuretik (Abdullah *et al.* 2013).

Dari tanaman *Orthosiphon stamineus* sering ditemukan senyawa utama diantaranya adalah asam rosmarinic, eupatorin dan sinensetin (Gimbun, Pang, and Yusoff 2019). Asam rosmarinic dan sinensetin telah teridentifikasi memiliki efek diuretik (Zakaria *et al.* 2023). Sinensetin menunjukkan efek vasodilatasi, dimana hal tersebut dapat membantu proses dalam penurunan tekanan darah melalui antagonis kontraksi cincin aorta (Yam, Tan, and Shibao 2018). Hasil isolasi dari daun *Orthosiphon stamineus* didapatkan senyawa *methylpariochromene A* yang dapat menurunkan tekanan darah melalui vasodilatasi, penurunan curah jantung dan diuretik (Ameer *et al.* 2012). Ekstrak dari *Orthosiphon stamineus* juga ditemukan mengandung flavonoid, asam fenolik, fragmen minyak atsiri dan diterpene (Gimbun, Pang, and Yusoff 2019).

Pengembangan dan pemilihan obat-obat saat ini penting untuk dilakukan dan diharapkan memiliki selektivitas tinggi terhadap reseptor spesifik untuk efek terapeutik

yang maksimum. *Molecular docking* merupakan metode komputasional yang digunakan untuk memprediksi interaksi antara suatu molekul kecil (ligan) dengan target makromolekul biologis (reseptor), dengan tujuan mengestimasi orientasi ikatan yang paling stabil secara energetik serta afinitas ligan terhadap situs aktif reseptor secara efisien. Saat ini penelitian mengenai interaksi senyawa dalam tanaman kumis kucing dengan reseptor antihipertensi belum dilakukan sehingga tujuan dari metode pada penelitian ini adalah untuk memprediksi konformasi terikat dan afinitas pengikatan yang terbentuk (Trott and Olson 2012).

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk memprediksi interaksi antara senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman kumis kucing (*Orthosiphon stamineus*) dengan reseptor target antihipertensi secara *in silico*. Penelitian ini juga bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa yang berpotensi sebagai kandidat obat antihipertensi, menganalisis profil toksisitasnya, mengevaluasi sifat fisikokimia berdasarkan *Lipinski's Rule of Five*, serta mengkaji parameter farmakokinetik yang mencakup aspek ADME (Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, dan Ekskresi).

## 2. Material dan Metode

### Material

Perangkat Keras (*Hardware*) yang digunakan yaitu laptop Lenovo IdeaPad Slim 3, Processor AMD Ryzen 3 3250U with Radeon Graphics 2.60 GHz (4 CPUs), RAM 12 GB, ROM 256 GB, Operating System Windows 10 Pro 64 Bit, Perangkat Lunak (*Software*) yang digunakan yaitu AutoDockTools-1.5.6, Discovery Studio 2016, Chemdraw 3D Pro, Web Server yang digunakan yaitu PubChem Web Server, Protocx Web Server, pkCSM Web Server, Protein Data Bank (PDB), Lipinski's Rule of Five.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ligan uji yang merupakan senyawa tanaman kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* B.) yaitu 7,3',4'-Tri-O-methyllyuteolin, Sinensetin, Eugenol, Salvianic acid A, Vomifoliol, Aurantiamide acetate, 1,8-cineol, Borneol, Bornyl acetate, Camphor, Carvone, Damascenone, delta-terpineol, Geranyl acetone, Limonene, Linalool, Linalool oxide, 1-Hexanol, 3-Octanol, 4-Heptenal, beta-Cyclocitral, beta-Ionone, Cis-linalool oxide, Decanal, Hexanal, Isobornylacetate, Methylripario-chromene A (Wang, et al., 2023) dan digunakan juga reseptor *carbonic anhydrase II* dengan PDB ID 1Z9Y dengan ligan pembanding *Furosemide*.

### Metode

#### Pencarian Struktur Reseptor

Pencarian struktur reseptor *carbonic anhydrase II* dengan kode PDB ID: 1Z9Y diperoleh dari web server Protein Data Bank dengan mengakses <https://www.rcsb.org/>, kemudian dipreparasi dengan menggunakan software Discovery Studio 2016. Reseptor harus memiliki beberapa faktor, yaitu: resolusi kurang dari 2 Å, tidak mengalami mutasi dan metode X-ray diffraction (Azzahra et al. 2024).

### ***Pencarian Struktur Ligand Uji***

Struktur ligan dan data *canonical SMILES* dari senyawa uji diperoleh melalui *web server PubChem* yang dapat diakses di laman <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Proses pencarian dilakukan dengan memasukkan nama senyawa pada kolom pencarian (*search bar*). Setelah itu, hasil pencarian akan menampilkan kolom *compound best match* yang mencakup senyawa utama beserta turunannya. Struktur 3D senyawa dapat diunduh dalam format *.sdf (Structure Data File)*, sedangkan informasi struktur linear senyawa diperoleh melalui salinan rumus *canonical SMILES*, yang kemudian digunakan pada tahap analisis *in silico* berikutnya (Azzahra et al. 2024).

### ***Uji Toksisitas***

Uji toksisitas terhadap senyawa-senyawa aktif dalam tanaman kumis kucing dilakukan secara *in silico* menggunakan *web server ProTox-II*, yang dapat diakses melalui laman <http://tox.charite.de>. Proses prediksi diawali dengan memilih menu "*Tox Prediction*", kemudian memasukkan *canonical SMILES* dari senyawa uji pada kolom "*Search*" / "*PubChem-Name*". Setelah senyawa dikenali, akan ditampilkan struktur molekul dalam representasi dua dimensi (2D) pada lembar kerja. Selanjutnya, pada bagian "*Additional models to predict*", seluruh model prediksi toksisitas dicentang untuk mencakup evaluasi yang lebih komprehensif. Proses prediksi dimulai dengan menekan tombol "*Start Tox Prediction*", dan hasil yang diperoleh meliputi estimasi nilai  $LD_{50}$ , *average similarity*, serta *prediction accuracy* (Azzahra et al. 2024).

### ***Uji ADME***

Pengujian profil farmakokinetik senyawa ligan uji dilakukan secara *in silico* menggunakan *web server pkCSM*, yang dapat diakses melalui laman <http://biosig.unimelb.edu.au>. Setelah halaman utama terbuka, pengguna memilih menu "*pkCSM*" untuk diarahkan ke fitur prediksi *Pharmacokinetics Properties*. Selanjutnya, pada bagian "*Please provide a set of molecules (SMILES format)*", dimasukkan rumus *canonical SMILES* dari senyawa yang akan dianalisis. Langkah berikutnya adalah memilih menu "*Please choose the prediction*", yang akan menampilkan berbagai opsi prediksi profil farmakokinetik serta parameter fisikokimia senyawa. Setelah itu, dengan menekan tombol "*ADMET*", sistem akan menampilkan deskripsi molekuler beserta hasil prediksi menyeluruh terhadap parameter farmakokinetik (Azzahra et al. 2024).

### ***Uji Lipinski's Rule of Five***

Evaluasi kesesuaian senyawa uji terhadap *Lipinski's Rule of Five* dilakukan melalui *web server* yang dapat diakses secara gratis di laman <http://www.scfbio-iitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp>. Pada halaman utama, struktur kimia 3D dari senyawa uji diunggah melalui kolom "*Input Drug File*", kemudian nilai pH diatur pada angka 7 pada kolom "*Input pH Value*". Setelah menekan tombol "*Submit*", sistem akan menghasilkan evaluasi terhadap parameter-parameter utama yang sesuai dengan aturan Lipinski, yakni: massa molekul < 500 g/mol, nilai  $\text{Log P} < 5$ , jumlah donor ikatan hidrogen

< 5, jumlah akseptor ikatan hidrogen < 10, dan refraktivitas molar berada dalam rentang 40–130 (Azzahra *et al.* 2024).

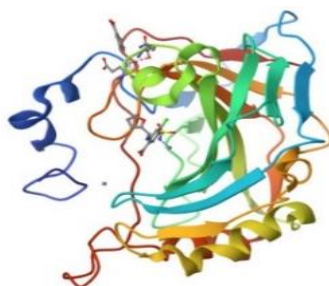
### **Molecular Docking**

*Molecular docking* dilakukan menggunakan perangkat lunak *AutoDockTools* versi 1.5.6, dengan tahap awal berupa preparasi reseptor dan ligan yang diperoleh dari *web server Protein Data Bank (PDB)* dan disimpan dalam format *.pdb*. *File* protein dan ligan selanjutnya dibuka dan dianalisis menggunakan *BIOVIA Discovery Studio 2016*. Validasi metode dilakukan dengan *re-docking* ligan asli (*native ligand*) yang sebelumnya telah dipisahkan dari reseptor 1Z9Y. Proses ini menggunakan *grid box* berukuran  $40 \times 40 \times 40$  dengan titik pusat koordinat:  $x = 16.402$ ,  $y = 5.697$ , dan  $z = 14.864$ . Parameter validasi yang digunakan adalah nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*), di mana metode *docking* dianggap valid apabila nilai  $RMSD \leq 2 \text{ \AA}$ . Semakin kecil nilai RMSD, semakin akurat prediksi posisi ligan karena mendekati konformasi aslinya (Ruswanto, 2015). Setelah metode tervalidasi, dilakukan *docking* terhadap 27 senyawa uji yang telah dipreparasi terhadap reseptor 1Z9Y yang telah dipisahkan dari ligan asli. Proses *docking* dilakukan dengan parameter dan prosedur yang sama seperti saat validasi. Hasil *docking* dianalisis dan divisualisasikan menggunakan *BIOVIA Discovery Studio*, baik dalam bentuk interaksi dua dimensi (2D) maupun tiga dimensi (3D) untuk mengamati interaksi antara senyawa uji dan residu asam amino aktif pada reseptor (Azzahra *et al.* 2024).

## **3. Hasil**

### **Hasil Pencarian Reseptor**

Jenis protein yang digunakan dalam penelitian ini adalah "*Carbonic anhydrase II in complex with furosemide as sulfonamide inhibitor*" yang merupakan protein transmembran yang memiliki dua domain utama: domain ekstraseluler yang mengikat ligan dan domain intraseluler yang memiliki aktivitas enzim, biasanya kinase (Nabilla Cahyani *et al.* 2021). Protein tersebut ditunjukkan pada Gambar 1.

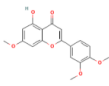
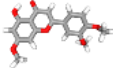
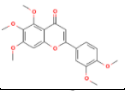
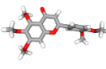






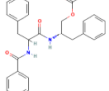



















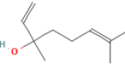

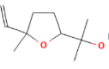

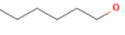

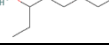



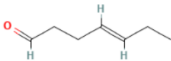



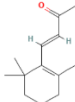
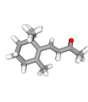
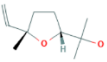

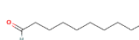

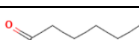

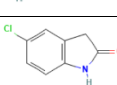

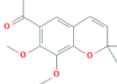

**Gambar 1.** Struktur 3D *Carbonic anhydrase II* (PDB : 1Z9Y)

### **Hasil Pencarian Ligan Uji**

Rumus *canonical SMILES*, struktur 2D dan 3D dari 27 senyawa aktif dari tanaman Kumis kucing yang merupakan ligan uji dapat diunduh melalui *web server PubChem* (Wang *et al.* 2023) disajikan dalam Tabel 1.

**Tabel 1.** Struktur 2D dan 3D Ligan Uji

Nama Senyawa	Struktur 2D	Struktur 3D
<i>7,3',4'-Tri-O-methyluteolin</i>		
<i>Sinensetin</i>		
<i>Eugenol</i>		
<i>Salvianic acid A</i>		
<i>Vomifoliol</i>		
<i>Aurantiamide acetate</i>		
<i>1,8-cineol</i>		
<i>Borneol</i>		
<i>Bornyl acetate</i>		
<i>Camphor</i>		
<i>Carvone</i>		
<i>Damascenone</i>		
<i>delta-terpineol</i>		
<i>Geranyl acetone</i>		
<i>Limonene</i>		
<i>Linalool</i>		
<i>Linalool oxide</i>		
<i>1-Hexanol</i>		
<i>3-Octanol</i>		

4-Heptenal		
beta-Cyclocitral		
beta-Ionone		
Cis-linalool oxide		
Decanal		
Hexanal		
Isobornylacetate		
Methylripario-chromene A		

### Hasil Uji Toksisitas

Berikut hasil dari uji toksisitas dari senyawa uji dan ligan pembanding yang telah dilakukan :

**Tabel 2.** Hasil Uji Prediksi Toksisitas, *Acuracy* dan *Similarity*

Nama Senyawa	LD <sub>50</sub> (mg/kg)	Predicted tox class	Accuracy (%)	Similarity (%)
Furosemide	2000	4	100	100
Bumetanide	4624	5	100	100
7,3',4'-Tri-O-methyluteolin	4000	5	70,97	80,3
Sinensetin	5000	5	69,26	78,36
Eugenol	1930	4	100	100
Salvianic acid A	2000	4	69,26	77,45
Vomifoliol	9000	6	69,26	75,25
Aurantiamide acetate	550	4	69,26	73,55
1,8-cineol	2480	5	100	100
Borneol	500	4	100	100
Bornyl acetate	3100	5	100	100
Camphor	775	4	100	100
Carvone	1640	4	100	100
Damascenone	5000	5	68,07	69,65
delta-terpineol	2000	4	100	100
Geranyl acetone	5000	5	100	100
Limonene	4400	5	100	100
Linalool	2200	5	100	100
Linalool oxide	1150	4	100	100
1-Hexanol	710	4	100	100
3-Octanol	1000	4	100	100
4-Heptenal	5000	5	69,26	78,26
beta-Cyclocitral	2300	5	72,9	96,67

<i>beta-Ionone</i>	4590	5	100	100
<i>Cis-linalool oxide</i>	1150	4	100	100
<i>Decanal</i>	5000	5	100	100
<i>Hexanal</i>	3240	5	100	100
<i>Isobornylacetate</i>	447	4	68,07	62,38
<i>Methylripario-chromene A</i>	500	4	100	100

**Tabel 3.** Hasil Prediksi Toksisitas Pada Organ

<b>Nama Senyawa</b>	<b>Hepato-toksik</b>	<b>Karsinogenisitas</b>	<b>Imunotoksisitas</b>	<b>Mutagenicity</b>	<b>Sitotoksisitas</b>
<i>Furosemide</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>
<i>Bumetanide</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Active</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>
<i>7,3',4'-Tri-O-methyllyuteolin</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>
<i>Sinensetin</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Active</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>
<i>Eugenol</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>
<i>Salvianic acid A</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>
<i>Vomifoliol</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>
<i>Aurantiamide acetate</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>
<i>1,8-cineol</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>
<i>Borneol</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>
<i>Bornyl acetate</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>
<i>Camphor</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>
<i>Carvone</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>
<i>Damascenone</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>
<i>delta-terpineol</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>
<i>Geranyl acetone</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>
<i>Limonene</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>
<i>Linalool</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>
<i>Linalool oxide</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>
<i>1-Hexanol</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>
<i>3-Octanol</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>
<i>4-Heptenal</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>
<i>beta-Cyclocitral</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>
<i>beta-Ionone</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>
<i>Cis-linalool oxide</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>
<i>Decanal</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>
<i>Hexanal</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>
<i>Methylripariochromene A</i>	<i>Inactive</i>	<i>Active</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>	<i>Inactive</i>

## Hasil Uji ADME

**Tabel 4.** Hasil Prediksi Absorpsi Virtual pKCSM

Nama Senyawa	Intestinal absorption (%)	Caco2 permeability (log Papp in 10 <sup>-6</sup> cm/s)	Water Solubility (log mol/L)
<i>Furosemide</i>	61,358	-0,157	-2,771
<i>Bumetanide</i>	65,845	0,939	-3,164
<i>7,3',4'-Tri-O-methyluteolin</i>	95,355	1,161	-3,935
<i>Eugenol</i>	92,041	1,559	-2,25
<i>Salvianic acid A</i>	41,772	-0,112	-2,18
<i>Vomifoliol</i>	94,956	1,253	-1,637
<i>Aurantiamide acetate</i>	94,997	1,142	-4,098
<i>1,8-cineol</i>	96,505	1,485	-2,63
<i>Borneol</i>	93,439	1,484	-2,462
<i>Bornyl acetate</i>	95,366	1,855	-3,03
<i>Camphor</i>	95,965	1,499	-2,895
<i>Carvone</i>	97,702	1,413	-2,324
<i>Damascenone</i>	96,897	1,229	-3,505
<i>delta-terpineol</i>	93,704	1,511	-2,705
<i>Geranyl acetone</i>	94,241	1,505	-4,98
<i>Limonene</i>	95,898	1,401	-3,568
<i>Linalool</i>	93,163	1,493	-2,612
<i>Linalool oxide</i>	94,872	1,403	-1,233
<i>1-Hexanol</i>	93,259	1,474	-1,286
<i>3-Octanol</i>	92,738	1,481	-2,252
<i>4-Heptenal</i>	95,938	1,494	-2,189
<i>beta-Cyclocitral</i>	95,822	1,501	-2,643
<i>beta-Ionone</i>	95,44	1,513	-4,004
<i>Cis-linalool oxide</i>	94,872	1,403	-1,233
<i>Decanal</i>	94,394	1,484	-4,337
<i>Hexanal</i>	95,788	1,488	-1,758

**Tabel 5.** Hasil Prediksi Distribusi Virtual pkCSM

Nama Senyawa	VDSS (Human) (log L/kg)	BBB permeability (log BB)	CNS permeability (log PS)
<i>Furosemide</i>	-2,165	-1,139	-2,757
<i>Bumetanide</i>	-2,264	-1,129	-2,85
<i>7,3',4'-Tri-O-methyluteolin</i>	-0,162	-0,711	-2,287
<i>Eugenol</i>	0,24	0,374	-2,007
<i>Salvianic acid A</i>	-0,63	-0,876	-3,033
<i>Vomifoliol</i>	-0,241	-0,084	-3,273
<i>Aurantiamide acetate</i>	-0,016	-0,283	-2,643
<i>1,8-cineol</i>	0,491	0,368	-2,972
<i>Borneol</i>	0,337	0,646	-2,331
<i>Bornyl acetate</i>	0,307	0,553	-2,399
<i>Camphor</i>	0,331	0,612	-2,158
<i>Carvone</i>	0,179	0,588	-2,478
<i>Damascenone</i>	0,265	0,604	-2,345
<i>delta-terpineol</i>	0,238	0,594	-2,126
<i>Geranyl acetone</i>	0,307	0,653	-1,922
<i>Limonene</i>	0,396	0,732	-2,37

<i>Linalool</i>	0,152	0,598	-2,339
<i>Linalool oxide</i>	0,084	0,217	-3,03
<i>1-Hexanol</i>	0,055	0,202	-2,303
<i>3-Octanol</i>	0,142	0,622	-2,291
<i>4-Heptenal</i>	0,083	0,524	-2,009
<i>beta-Cyclocitral</i>	0,204	0,569	-2,444
<i>beta-Ionone</i>	0,319	0,594	-2,304
<i>Cis-linalool oxide</i>	0,084	0,217	-3,03
<i>Decanal</i>	0,299	0,705	-1,892
<i>Hexanal</i>	0,049	0,512	-2,13

Tabel 6. Hasil Prediksi Metabolisme Virtual pkCSM

Nama Senyawa	CYP2D6 Inhibitor	CYP3A4 Inhibitor
<i>Furosemide</i>	No	No
<i>Bumetanide</i>	No	No
<i>7,3',4'-Tri-O-methyluteolin</i>	No	Yes
<i>Eugenol</i>	No	No
<i>Salvianic acid A</i>	No	No
<i>Vomifoliol</i>	No	No
<i>Aurantiamide acetate</i>	No	Yes
<i>1,8-cineol</i>	No	No
<i>Borneol</i>	No	No
<i>Bornyl acetate</i>	No	No
<i>Camphor</i>	No	No
<i>Carvone</i>	No	No
<i>Damascenone</i>	No	No
<i>delta-terpineol</i>	No	No
<i>Geranyl acetone</i>	No	No
<i>Limonene</i>	No	No
<i>Linalool</i>	No	No
<i>Linalool oxide</i>	No	No
<i>1-Hexanol</i>	No	No
<i>3-Octanol</i>	No	No
<i>4-Heptenal</i>	No	No
<i>beta-Cyclocitral</i>	No	No
<i>beta-Ionone</i>	No	No
<i>Cis-linalool oxide</i>	No	No
<i>Decanal</i>	No	No
<i>Hexanal</i>	No	No

Tabel 7. Hasil Prediksi Ekskresi Virtual pkCSM

Nama Senyawa	Total Clearance (log ml/min/kg)	Renal OCT2
<i>Furosemide</i>	0,208	No
<i>Bumetanide</i>	0,708	No
<i>7,3',4'-Tri-O-methyluteolin</i>	0,249	No
<i>Eugenol</i>	0,282	No
<i>Salvianic acid A</i>	0,444	No
<i>Vomifoliol</i>	1,355	No
<i>Aurantiamide acetate</i>	0,619	No
<i>1,8-cineol</i>	1,009	No

<i>Borneol</i>	1,035	No
<i>Bornyl acetate</i>	1,029	No
<i>Camphor</i>	0,109	No
<i>Carvone</i>	0,225	No
<i>Damascenone</i>	0,265	No
<i>delta-terpineol</i>	1,235	No
<i>Geranyl acetone</i>	1,588	No
<i>Limonene</i>	0,213	No
<i>Linalool</i>	0,446	No
<i>Linalool oxide</i>	1,297	No
<i>1-Hexanol</i>	0,439	No
<i>3-Octanol</i>	1,573	No
<i>4-Heptenal</i>	0,473	No
<i>beta-Cyclocitral</i>	0,143	No
<i>beta-Ionone</i>	1,315	No
<i>Cis-linalool oxide</i>	1,297	No
<i>Decanal</i>	1,608	No
<i>Hexanal</i>	0,436	No

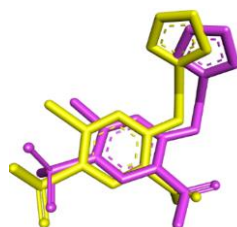
### Hasil Uji Lipinski's Rule of Five

**Tabel 8.** Hasil Uji Lipinski

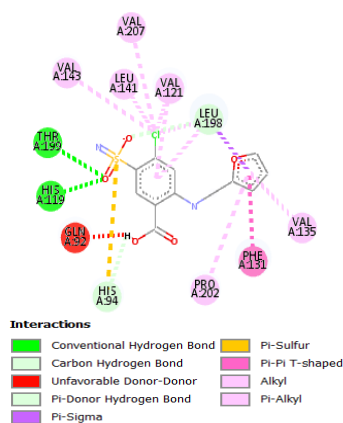
Nama Senyawa	BM (g/mol)	Donor H	Akseptor H	Log P	Molar Refractivity
<i>Furosemide</i>	330.5	4	7	2,9715	75,863396
<i>Bumetanide</i>	364	4	7	4,117299	94,732376
<i>7,3',4'-Tri-O-methyluteolin</i>	328	1	6	3,034199	87,140274
<i>Eugenol</i>	164	1	2	2,129300	48,559792
<i>Salvianic acid A</i>	198	4	5	0,085800	47,118195
<i>Vomifoliol</i>	224	2	3	1,599800	62,932583
<i>Aurantiamide acetate</i>	444	2	6	3,318299	126,551857
<i>1,8-cineol</i>	154	0	1	2,744100	45,526985
<i>Borneol</i>	154	1	1	2,193500	45,235790
<i>Bornyl acetate</i>	196	0	2	2,764300	54,782986
<i>Camphor</i>	152	0	1	2,401700	44,235989
<i>Carvone</i>	150	0	1	2,487900	46,301991
<i>Damascenone</i>	190	0	1	3,434199	60,058987
<i>delta-terpineol</i>	154	1	1	2,503700	47,395790
<i>Geranyl acetone</i>	194	0	1	4,048298	62,336979
<i>Limonene</i>	136	0	0	3,308899	45,911987
<i>Linalool</i>	154	1	1	2,669800	49,485786
<i>Linalool oxide</i>	170	1	2	1,881000	49,006786
<i>1-Hexanol</i>	102	1	1	1,559000	31,227791
<i>3-Octanol</i>	130	1	1	2,337600	40,439789
<i>4-Heptenal</i>	112	0	1	1,931700	34,728992
<i>beta-Cyclocitral</i>	152	0	1	2,711900	46,395988
<i>beta-Ionone</i>	192	0	1	3,658199	60,152985
<i>Cis-linalool oxide</i>	170	1	2	1,881000	49,006786
<i>Decanal</i>	156	0	1	3,325999	48,673985
<i>Hexanal</i>	100	0	1	1,765600	30,205992

### Hasil Validasi Metode Docking

Proses validasi dilakukan sebanyak 1 kali dan menghasilkan nilai RMSD sebesar 1,251 Å, dengan nilai energi ikatan (*binding affinity*) sebesar -8,14 kcal/mol dan nilai konstanta inhibisi sebesar 1,09 uM (*micromolar*). Visualisasi hasil *docking* disajikan dalam Gambar 2 dan Gambar 3.



**Gambar 2.** Hasil Validasi  
(ungu : ligand, kuning : copy ligand)



**Gambar 3.** Hasil Validasi Interaksi 2D

### Hasil Molecular Docking

**Tabel 2.** Hasil Molecular Docking

Nama Senyawa	RMSD (Å)	Energi Ikatan (kcal/mol)	Konstanta Inhibisi	Asam Amino	Jenis Ikatan
Eurosemid	1,251	-8,14	1,09 μM	THR A: 199	Hidrogen
				HIS A: 119	Hidrogen
				HIS A: 94	Hidrogen
				LEU A: 198	Hidrogen
				PRO A: 202	Hidrofobik
				VAL A: 121	Hidrofobik
				LEU A: 198	Hidrofobik
				VAL A: 143	Hidrofobik
				LEU A: 141	Hidrofobik
				VAL A: 207	Hidrofobik
				VAL A: 135	Hidrofobik
				PHE A: 131	Hidrofobik
				Bumetanide	1,398
ASN A: 67	Hidrogen				
GLN A: 92	Hidrogen				
HIS A: 64	Hidrogen				
PHE A: 131	Hidrofobik				

				LEU A: 204	Hidrofobik
				VAL A: 121	Hidrofobik
				LEU A: 198	Hidrofobik
				VAL A: 135	Hidrofobik
<i>7,3',4'-Tri-O-methyluteolin</i>	1,648	-7,65	2,46 $\mu$ M	THR A: 199	Hidrogen
				GLN A: 92	Hidrogen
				LEU A: 198	Hidrofobik
				PHE A: 131	Hidrofobik
				VAL A:121	Hidrofobik
<i>Eugenol</i>	0,292	-5,86	50,46 $\mu$ M	THR A: 200	Hidrogen
				HIS A: 94	Hidrogen
				HIS A: 96	Hidrogen
				THR A: 199	Hidrogen
				HIS A: 94	Hidrofobik
				PHE A: 131	Hidrofobik
				LEU A: 198	Hidrofobik
				VAL A: 121	Hidrofobik
				LEU A: 141	Hidrofobik
				VAL A: 143	Hidrofobik
<i>Salvianic acid A</i>	3,015	-6,73	11,75 $\mu$ M	LEU A: 198	Hidrogen
				ASN A: 62	Hidrogen
				ASN A: 67	Hidrogen
				HIS A: 96	Hidrogen
				LEU A:198	Hidrofobik
<i>Vomifoliol</i>	1,950	-6,22	27,70	HIS A: 94	Hidrogen
				HIS A: 96	Hidrogen
				PRO A: 202	Hidrogen
				HIS A: 64	Hidrofobik
				HIS A: 94	Hidrofobik
				VAL A: 121	Hidrofobik
				LEU A: 198	Hidrofobik
<i>Aurantiamide acetate</i>	1,242	-8,84	333,43 nM	HIS A: 94	Hidrogen
				ASN A: 62	Hidrogen
				GLN A: 92	Hidrogen
				HIS A: 94	Hidrofobik
				PHE A: 131	Hidrofobik
				ILE A: 91	Hidrofobik
				VAL A: 143	Hidrofobik
				VAL A: 135	Hidrofobik
				LEU A: 198	Hidrofobik
<i>1,8-cineol</i>	0,007	-6,03	38,20 $\mu$ M	THR A: 199	Hidrogen
				VAL A: 207	Hidrofobik
				HIS A: 94	Hidrofobik
				HIS A: 96	Hidrofobik
				HIS A: 119	Hidrofobik
				TRP A: 209	Hidrofobik
				VAL A: 121	Hidrofobik
				LEU A: 198	Hidrofobik
				VAL A: 143	Hidrofobik
<i>Borneol</i>	0,009	-6,37	21,59 $\mu$ M	HIS A: 94	Hidrogen
				VAL A: 121	Hidrofobik
				LEU A: 198	Hidrofobik
				LEU A: 141	Hidrofobik

				VAL A: 207	Hidrofobik
				VAL A: 143	Hidrofobik
				HIS A: 94	Hidrofobik
				HIS A: 119	Hidrofobik
				TRP A: 209	Hidrofobik
<i>Bornyl acetate</i>	0,334	-6,05	36,78 $\mu$ M	THR A: 199	Hidrogen
				VAL A: 121	Hidrofobik
				LEU A: 198	Hidrofobik
				LEU A: 141	Hidrofobik
				HIS A: 94	Hidrofobik
				PHE A: 131	Hidrofobik
<i>Camphor</i>	0,037	-6,77	10,87 $\mu$ M	THR A: 199	Hidrogen
				VAL A: 121	Hidrofobik
				LEU A: 198	Hidrofobik
				VAL A: 143	Hidrofobik
				VAL A: 207	Hidrofobik
				HIS A: 94	Hidrofobik
				HIS A: 119	Hidrofobik
				TRP A: 209	Hidrofobik
<i>Carvone</i>	0,006	-6,51	16,92 $\mu$ M	HIS A: 119	Hidrogen
				VAL A: 121	Hidrofobik
				LEU A: 198	Hidrofobik
				VAL A: 207	Hidrofobik
				VAL A: 143	Hidrofobik
				LEU A: 141	Hidrofobik
				HIS A: 64	Hidrofobik
				HIS A: 94	Hidrofobik
				HIS A: 96	Hidrofobik
				TRP A: 209	Hidrofobik
<i>Damascenone</i>	1,926	-6,91	8,57 $\mu$ M	THR A: 199	Hidrogen
				THR A: 200	Hidrogen
				VAL A: 121	Hidrofobik
				LEU A: 198	Hidrofobik
				VAL A: 143	Hidrofobik
				VAL A: 207	Hidrofobik
				ALA A: 65	Hidrofobik
				HIS A: 64	Hidrofobik
				HIS A: 94	Hidrofobik
				HIS A: 119	Hidrofobik
				TRP A: 209	Hidrofobik
<i>delta-terpineol</i>	1,928	-5,97	42,13 $\mu$ M	VAL A: 121	Hidrofobik
				LEU A: 198	Hidrofobik
				LEU A: 141	Hidrofobik
				PHE A: 131	Hidrofobik
<i>Geranyl acetone</i>	1,901	-5,87	49,82 $\mu$ M	HIS A: 119	Hidrogen
				VAL A: 121	Hidrofobik
				LEU A: 198	Hidrofobik
				VAL A: 143	Hidrofobik
				LEU A: 141	Hidrofobik
				HIS A: 94	Hidrofobik
				HIS A: 64	Hidrofobik
<i>Limonene</i>	1,854	-5,33	124,33 $\mu$ M	VAL A: 121	Hidrofobik
				LEU A: 198	Hidrofobik
				VAL A: 207	Hidrofobik

				VAL A: 143	Hidrofobik
				LEU A: 141	Hidrofobik
				HIS A: 94	Hidrofobik
				HIS A: 64	Hidrofobik
				HIS A: 96	Hidrofobik
				TRP A: 209	Hidrofobik
<i>Linalool</i>	0,784	-5,49	95,26 $\mu$ M	THR A: 199	Hidrogen
				HIS A: 96	Hidrogen
				LEU A: 198	Hidrofobik
				VAL A: 207	Hidrofobik
				VAL A: 143	Hidrofobik
				ALA A: 65	Hidrofobik
				HIS A: 64	Hidrofobik
				HIS A: 94	Hidrofobik
				HIS A: 96	Hidrofobik
				TRP A: 209	Hidrofobik
<i>Linalool oxide</i>	1,874	-5,70	66,47 $\mu$ M	THR A: 199	Hidrogen
				VAL A: 121	Hidrofobik
				LEU A: 198	Hidrofobik
				LEU A: 141	Hidrofobik
				PHE A: 131	Hidrofobik
<i>3-Octanol</i>	0,286	-4,94	243,24 $\mu$ M	HIS A: 119	Hidrogen
				HIS A: 94	Hidrogen
				VAL A: 143	Hidrofobik
				VAL A: 121	Hidrofobik
				LEU A: 141	Hidrofobik
				LEU A: 198	Hidrofobik
<i>beta-Cyclocitral</i>	0,012	-6,49	17,44 $\mu$ M	THR A: 199	Hidrogen
				HIS A: 119	Hidrogen
				VAL A: 121	Hidrofobik
				LEU A: 198	Hidrofobik
				VAL A: 143	Hidrofobik
				HIS A: 64	Hidrofobik
				HIS A: 94	Hidrofobik
				HIS A: 119	Hidrofobik
				TRP A: 209	Hidrofobik
<i>beta-Ionone</i>	0,062	-6,75	11,33 $\mu$ M	ASN A: 62	Hidrogen
				VAL A: 121	Hidrofobik
				LEU A: 198	Hidrofobik
				VAL A: 143	Hidrofobik
				HIS A: 94	Hidrofobik
				HIS A: 96	Hidrofobik
				HIS A: 119	Hidrofobik
				TRP A: 209	Hidrofobik
<i>Cis-linalool oxide</i>	0,026	-5,77	59,38 $\mu$ M	HIS A: 94	Hidrogen
				VAL A: 121	Hidrofobik
				LEU A: 198	Hidrofobik
<i>Decanal</i>	1,178	-4,49	515,46 $\mu$ M	HIS A: 119	Hidrogen
				LEU A: 198	Hidrofobik

## 4. Pembahasan

### Prediksi Toksisitas

Pengujian toksisitas dilakukan dengan menggunakan *web server ProTox-II*, istilah umum yang digunakan untuk menggambarkan toksisitas oral akut yaitu LD<sub>50</sub> (*Lethal Dosis*). LD<sub>50</sub> dapat diartikan dosis oral tunggal yang diperkirakan menyebabkan kematian pada 50% hewan uji dan disajikan dalam mg/kg. Senyawa dengan LD<sub>50</sub> lebih besar dari 2000 mg/kg dianggap toksisitas rendah, maka dari itu semakin besar nilai LD<sub>50</sub> maka dapat dinyatakan senyawa tersebut semakin aman (Morris-scha and Mccoy 2021). Prediksi toksisitas terbagi menjadi 6 kelas, kelas 1-3 menandakan senyawa yang bersifat toksik bila tertelan, kelas 4-5 menandakan efek toksisitas yang rendah dan kelas 6 relatif tidak toksik. Semakin besar angka kelas prediksi toksisitas maka semakin aman senyawa tersebut, dan sebaliknya semakin kecil angka kelas prediksi toksisitas maka semakin toksik suatu senyawa (Nabilla Cahyani *et al.* 2021). Melihat nilai LD<sub>50</sub> pada Tabel 2, maka dapat dikatakan bahwa ligan uji *Isobornylacetate* tidak aman untuk dijadikan obat karena memiliki nilai LD<sub>50</sub> dibawah 500 mg/kg yang dapat diartikan cukup toksik dibandingkan dengan ligan pembanding dan ligan uji yang lain. Jika dilihat dari kelas toksisitasnya semua ligan dikatakan aman karena memiliki kelas toksisitas diantara kelas 4-6 atau dapat diartikan 27 senyawa ligan uji memiliki level toksisitas yang cukup baik.

Berdasarkan Tabel 3 dapat dikatakan ligan pembanding dan semua ligan uji memiliki nilai *accuracy* dan *similarity* yang baik karena semua nilainya diatas 50%. Bahkan ligan pembanding dan beberapa ligan uji memiliki nilai hingga 100%. Melalui *web server ProTox-II* juga diperoleh data mengenai prediksi toksisitas pada organ dari suatu senyawa secara spesifik. Prediksi titik akhir toksisitas dalam *web server ProTox-II* meliputi, hepatotoksik, karsinogenitas, imunotoksisitas, mutagenisitas, dan sitotoksitas.

Berdasarkan Tabel 4, diperoleh ada 24 senyawa uji yang tidak memiliki potensi toksik yang spesifik, dan ada 2 senyawa uji yang memiliki potensi imunotoksisitas dan karsinogenisitas. Senyawa tersebut diantaranya adalah *Sinensetin* dan *Methylripariochromene A*, sehingga 2 senyawa uji tersebut tidak dapat dijadikan kandidat ligan uji untuk tahap berikutnya. Sedangkan 24 senyawa lainnya dapat diteruskan untuk pengujian selanjutnya.

### Uji ADME

#### Absorpsi

Absorpsi merupakan proses masuknya senyawa aktif dari lokasi pemberian ke dalam sirkulasi sistemik. Evaluasi atau prediksi tingkat absorpsi suatu senyawa melibatkan beberapa parameter utama, seperti Human Intestinal Absorption (HIA), permeabilitas CaCO<sub>2</sub>, dan kelarutan dalam air. Parameter HIA digunakan untuk memperkirakan kemampuan senyawa dalam melewati saluran usus manusia, dan nilai yang diperoleh mencerminkan gabungan antara bioavailabilitas dan tingkat absorpsi, yang dihitung berdasarkan rasio ekskresi melalui urin, empedu, dan feses. HIA diklasifikasikan ke dalam tiga kategori berdasarkan persentase absorpsi, yaitu: rendah (0-

20%), sedang (20–70%), dan tinggi (70–100%) (Nursamsiar, Tandi Toding, and Awaluddin 2016).

Sel CaCO-2 merupakan sel epitel adenokarsinoma kolorektal manusia yang secara luas digunakan sebagai model *in vitro* dari mukosa usus manusia untuk memprediksi absorpsi obat yang dikonsumsi secara oral. Dalam model prediktif pkCSM, permeabilitas CaCO-2 yang tinggi ditunjukkan oleh nilai  $> 0,90$  (Nursanti *et al.* 2016).

Berdasarkan Tabel 5, semua ligan uji menunjukkan nilai *Human Intestinal Absorption* (HIA) dengan kategori sedang dan baik. Nilai HIA dengan kategori sedang terdapat pada senyawa *Salvianic Acid A*, sedangkan senyawa ligan uji lainnya berada pada kategori tinggi. Semua senyawa yang diujikan memiliki nilai absorpsi usus  $> 20\%$ , yang mengindikasikan potensi absorpsi usus yang cukup baik. Terdapat 1 senyawa ligan uji yang memiliki nilai CaCO-2  $< 0,9$  yang dapat diartikan dalam proses penyerapan pada usus kurang baik, dan terdapat 23 senyawa ligan uji yang memiliki nilai CaCO-2  $> 0,9$  yang dapat diartikan dalam proses penyerapan pada usus cukup baik.

Pada prediksi *water solubility* menunjukkan seluruh senyawa ligan uji pada penelitian ini memiliki nilai *water solubility* lebih kecil dari 0 yang dapat diartikan bahwa senyawa ligan uji cenderung tidak larut air.

### **Distribusi**

Distribusi merupakan proses perpindahan obat dari sirkulasi sistemik menuju jaringan dan cairan tubuh. Dalam prediksi *in silico* menggunakan *web server* pkCSM, proses distribusi senyawa dievaluasi melalui tiga parameter utama, yaitu volume distribusi pada manusia (*Volume of Distribution at steady state* atau VDss Human), permeabilitas terhadap sawar darah-otak (*Blood-Brain Barrier permeability*), serta permeabilitas terhadap sistem saraf pusat (*Central Nervous System permeability*).

VDss merepresentasikan volume teoretis yang diperlukan untuk mendistribusikan total dosis obat secara merata dalam tubuh sehingga mencapai konsentrasi yang setara dengan konsentrasi dalam plasma darah. Parameter ini digunakan untuk menggambarkan sejauh mana suatu senyawa dapat berdifusi ke jaringan tubuh. Nilai VDss dianggap rendah apabila berada di bawah 0,71 L/kg (dengan log VDss antara  $< 0$  hingga 0,15), dan dikategorikan tinggi apabila melebihi 2,81 L/kg (dengan log VDss  $> 0,45$ ) (Pires DEV, Blundell TL. 2015).

Berdasarkan Tabel 6, dapat disimpulkan bahwa senyawa *1,8-cineol* memiliki nilai VDss lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa uji lainnya. Nilai VDss rendah yang didapat oleh senyawa uji masih lebih baik dari *native ligand* dan ligan pembandingnya. Semakin besar nilai VDss maka semakin banyak yang terdistribusi di plasma.

*Blood-Brain Barrier* (BBB) menggambarkan kemampuan suatu senyawa untuk melintasi sawar darah-otak dan mencapai jaringan otak. Kemampuan ini penting untuk mempertimbangkan baik potensi efek terapeutik maupun risiko toksisitas sistem saraf pusat. Senyawa dengan nilai logBB  $> 0,3$  dikategorikan memiliki kemampuan tinggi untuk menembus sawar otak, sementara senyawa dengan logBB  $< -1$  dianggap memiliki distribusi yang sangat rendah ke dalam jaringan otak (Hartanti *et al.* 2022).

Berdasarkan tabel 6 diatas, dapat disimpulkan bahwa beberapa senyawa yaitu *7,3',4'-Tri-O-methyluteolin*, *Salvianic acid A*, *Vomifoliol*, *Aurantiamide acetate*, *Linalool oxide*, *1-Hexanol*, dan *Cis-linalool oxide* memiliki nilai logBB diantara  $< 0,3$  dan  $> -1$  yang dapat diartikan membutuhkan waktu lebih lama untuk dapat melewati sawar otak, sedangkan senyawa lainnya yaitu *Eugenol*, *1,8-cineol*, *Borneol*, *Bornyl acetate*, *Camphor*, *Carvone*, *Damascenone*, *delta-terpineol*, *Geranyl acetone*, *Limonene*, *Linalool*, *3-Octanol*, *4-Heptenal*, *beta-Cyclocitral*, *beta-Ionone*, *Decanal*, dan *Hexanal* memiliki nilai logBB  $> 0,3$  yang siap melewati sawar otak.

Parameter *Central Nervous System (CNS) permeability* digunakan untuk mengevaluasi kemampuan suatu senyawa dalam menembus sistem saraf pusat. Senyawa dengan nilai logPS  $> -2$  dianggap memiliki potensi untuk menembus sawar sistem saraf pusat, sedangkan senyawa dengan nilai logPS  $< -3$  dikategorikan sebagai senyawa yang tidak mampu melintasi sawar tersebut secara efektif (Nursanti *et al.* 2016).

Dari hasil prediksi *CNS permeability* dapat diketahui ada 4 senyawa yang tidak dapat menembus sistem saraf pusat yaitu *Salvianic acid A*, *Vomifoliol*, *Linalool oxide*, dan *Cis-linalool oxide*. Sedangkan 18 senyawa lainnya membutuhkan waktu lebih lama untuk menembus sistem saraf pusat dibandingkan dengan senyawa *Geranyl acetone* dan *Decanal* yang siap menembus sistem saraf pusat.

### **Metabolisme**

Metabolisme merupakan proses biotransformasi senyawa obat menjadi metabolit aktif yang dapat menimbulkan efek farmakologis, atau menjadi metabolit inaktif yang siap dieliminasi dari tubuh. Proses ini umumnya berlangsung di hati, organ utama yang mengandung berbagai enzim metabolik, termasuk enzim-enzim dari keluarga sitokrom P450. Di antara isoform yang paling berperan dalam metabolisme obat adalah CYP2D6 dan CYP3A4, yang berkontribusi signifikan terhadap oksidasi dan detoksifikasi berbagai senyawa xenobiotik (Deviana *and* Diniatik 2021).

Berdasarkan hasil prediksi metabolisme pada Tabel 7, dapat diketahui bahwa ada 2 senyawa uji yaitu *7,3',4'-Tri-O-methyluteolin* dan *Aurantiamide acetate* termasuk kedalam inhibitor CYP3A4 dan dapat diartikan dapat mengganggu proses metabolisme. Sedangkan 22 senyawa uji lainnya tidak memiliki inhibitor CYP2D6 maupun CYP3A4 sehingga tidak mengganggu proses metabolisme di hati.

### **Ekskresi**

Ekskresi merupakan proses eliminasi obat dari tubuh, yang umumnya terjadi melalui ginjal dan diekskresikan dalam bentuk urin. Selain jalur ginjal, ekskresi obat juga dapat berlangsung melalui paru-paru, kulit, dan sekresi eksokrin seperti keringat dan saliva.

Evaluasi parameter ekskresi dapat dilakukan dengan mengukur *Total Clearance* dan aktivitas *Organic Cation Transporter 2 (OCT2)*. *Total clearance* mencerminkan gabungan dari laju eliminasi melalui metabolisme hepatic, sekresi empedu, serta ekskresi ginjal. Semakin tinggi nilai *total clearance*, maka semakin cepat konsentrasi obat menurun dalam plasma

darah. Sementara itu, OCT2 yang diekspresikan di ginjal memiliki peran krusial dalam proses disposisi dan eliminasi berbagai obat serta senyawa endogen melalui filtrasi ginjal. Jika *substrate* OCT2 dikombinasikan dengan *inhibitor* OCT2, ada kemungkinan bahwa *substrate* OCT2 akan mengalami interaksi sampingan (Krihariyani, Sasongkowati, and Haryanto 2020). Berdasarkan Tabel 8, dapat diartikan bahwa semua senyawa uji tidak mempengaruhi substrat OCT2.

### Uji *Lipinski's Rule of Five*

*Lipinski's Rule of Five* merupakan pendekatan prediktif yang digunakan untuk mengevaluasi kelayakan sifat fisikokimia suatu senyawa agar dapat menembus membran sel melalui mekanisme difusi pasif. Aturan ini berfungsi sebagai pedoman awal dalam penapisan kandidat obat berdasarkan karakteristik *drug-likeness*. Suatu senyawa dikatakan memenuhi kriteria *Lipinski* apabila memenuhi beberapa parameter, yaitu: (1) massa molekul kurang dari 500 Dalton; (2) nilai logP tidak melebihi 5; (3) jumlah donor ikatan hidrogen kurang dari 5; (4) jumlah akseptor ikatan hidrogen kurang dari 10; dan (5) nilai refraksi molar berada dalam rentang 40 hingga 130 (Sukmawaty, Susanti, and Masriany 2021).

Berdasarkan hasil analisis uji *Lipinski* yang tertera pada Tabel 9, dapat disimpulkan bahwa ada 21 senyawa yang memenuhi standar *Lipinski* yang telah ditetapkan, sehingga senyawa tersebut dapat berdifusi pasif ke dalam sel serta dapat dikonsumsi secara oral. Sedangkan ada 3 senyawa yang tidak memenuhi syarat pada refraksi molar karena nilainya ada dibawah 40 diantaranya adalah *1-Hexanol*, *4-Heptenal* dan *Hexanal*. Maka dari itu total senyawa yang akan *didocking*kan berjumlah 21 senyawa setelah melewati uji *protox*, *pkCSM* dan *Lipinski*.

### Validasi Metode *Docking*

Proses validasi metode *docking* dilakukan dengan cara *mendocking*kan antara reseptor *carbonic anhydrase II* (1Z9Y) dengan *native ligand* (*Furosemid*). Parameter yang digunakan untuk pengecekan validasi yaitu RMSD (*Root Mean Square Deviation*), metode *docking* kali ini dikatakan valid karena nilai RMSD  $\leq 2 \text{ \AA}$  (Yunita Al Azzahra, et al. 2023) yaitu 1,251  $\text{ \AA}$ . Berdasarkan gambar 4, dapat dilihat ikatan yang terjadi antara ligan dengan protein *carbonic anhydrase II*. Ikatan yang muncul diantaranya adalah ikatan hidrogen terhadap asam amino Treonin A: 199 (THR A: 199), Histidin A: 119 (HIS A: 119), Histidin A: 94 (HIS A: 94), Leusin A: 198 (LEU A: 198). Ada pula ikatan hidrofobik terhadap asam amino Prolin A: 202 (PRO A: 202), Valin A: 121 (VAL A: 121), Leusin A: 198 (LEU A: 198), Valin A: 143 (VAL A: 143), Leusin A: 141 (LEU A: 141), Valin A: 207 (VAL A: 207), Valin A: 207 (VAL A: 207), dan Valin A: 135 (VAL A: 135).

### *Molecular Docking*

Pada penelitian ini, dilakukan analisis *molecular docking* terhadap 21 senyawa metabolit sekunder yang telah memenuhi kriteria kelayakan berdasarkan uji toksisitas, parameter ADME, serta aturan *Lipinski*. Proses *docking* dilakukan menggunakan perangkat

lunak *AutoDock Tools*, dengan visualisasi interaksi molekul menggunakan *Discovery Studio Visualizer*. Parameter utama yang dianalisis dalam proses *molecular docking* meliputi nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD)  $\leq 2 \text{ \AA}$  sebagai indikator validitas prediksi orientasi ligan, nilai energi ikatan (*binding energy*, dalam satuan kcal/mol), nilai konstanta inhibisi (*inhibition constant*) yang rendah terhadap target protein reseptor *carbonic anhydrase II*, serta kesesuaian interaksi residu asam amino antara ligan dan sisi aktif protein.

Berdasarkan hasil analisis yang tertera pada Tabel 10, dapat disimpulkan bahwa hampir semua senyawa uji memiliki nilai RMSD  $< 2 \text{ \AA}$ , hanya 1 senyawa yang memiliki nilai RMSD  $> 2 \text{ \AA}$ , yaitu *Salvianic Acid A*. Dari 21 senyawa uji yang dilakukan *docking*, ada 3 senyawa yang memiliki nilai energi ikatan dan konstanta inhibisi yang mendekati *native ligand* dan ligan pembanding. Senyawa tersebut antara lain adalah *7,3',4'-Tri-O-methylfluteolin*, *Aurantiamide acetate*, dan *Damascenone*. Tetapi dari 3 senyawa tersebut terdapat 2 senyawa yang memiliki inhibitor CYP3A4 pada prediksi metabolisme, hal tersebut dapat dianggap mengganggu proses metabolisme. Oleh karena itu senyawa yang lolos dari semua uji dan hasil *docking* paling baik diantara 21 senyawa adalah senyawa *Damascenone*.

Tahapan selanjutnya adalah melakukan visualisasi 2D struktur ikatan antara ligan uji dengan reseptor furosemid. Visualisasi 2D dilakukan dengan program *Discovery Studio Visualizer*. Tujuan dari visualisasi 2D ini adalah untuk melihat jenis ikatan dan residu asam amino antara ligan dan proteinnya.

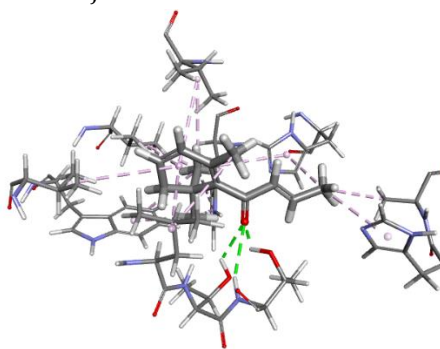
Visualisasi dan analisis interaksi hasil *molecular docking* dilakukan untuk memverifikasi dan membandingkan penambatan antara *native ligand* dan ligan uji yang digunakan. Hasil visualisasi ini memberikan gambaran mengenai bagaimana residu asam amino pada sisi aktif protein berinteraksi dengan ligan yang terikat. Residu asam amino memainkan peran penting dalam membentuk berbagai jenis interaksi antara makromolekul dan ligan, seperti ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik, serta ikatan elektrostatik, yang semuanya berkontribusi terhadap stabilitas dan afinitas pengikatan ligan pada situs target (Arwansyah, Ambarsari, and Sumaryada 2014).

Sebagai *native ligand*, *furosemid* menjadi acuan bagi ligan uji dalam menentukan seberapa baik ligan uji dapat digunakan sebagai kandidat obat. Pada hasil nilai RMSD yang rendah, energi ikatan (*binding affinity*) serta jenis dan posisi ikatan yang menyerupai *furosemid* dianggap dapat memberikan efek antihipertensi yang sama dengan *native ligand*.

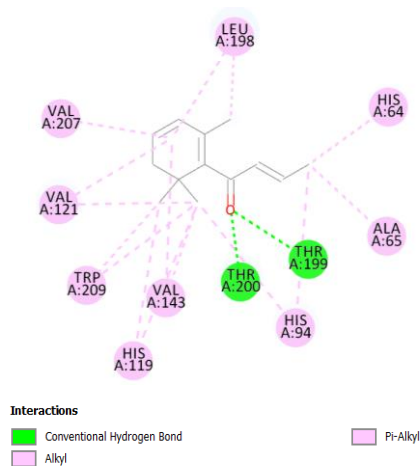
Nilai senyawa uji dengan RMSD yang memenuhi syarat salah satunya adalah senyawa *Damascenone* sebesar  $1.926 \text{ \AA}$ , senyawa ini termasuk dalam golongan keton dan merupakan senyawa yang menghasilkan aroma pada suatu tanaman (Aleksandra Zhogoleva, *et al.* 2023), nilai energi ikatan dan konstanta inhibisi berturut-turut sebesar  $-6,91 \text{ kcal/mol}$  dan  $8,57 \text{ \mu M}$ . Berdasarkan pengujian yang telah dilakukan pada uji protox, profil ADME, dan *Lipinski* memiliki hasil yang cukup baik. Ligan ini memiliki nilai *binding affinity* mendekati *native ligand*, yang artinya memiliki afinitas ikatan yang baik saat berikatan dengan *carbonic anhydrase II*.

Tidak hanya nilai RMSD dan *binding affinity* yang cukup untuk mengukur efektivitas obat, tetapi ikatan yang tepat antara ligan dan reseptornya juga penting. Selain itu, perlu mempertimbangkan jenis ikatan dan posisi ikatan. *Furosemid* sebagai *native ligand*

memiliki 4 ikatan hidrogen, *bumetanid* sebagai ligan pembanding tidak memiliki ikatan hidrogen, dan *Damascenone* memiliki 1 ikatan hidrogen. Berdasarkan data Tabel 10, dapat dilihat bahwa *Damascenone* memiliki potensi yang lebih baik dalam menghambat kerja enzim *carbonic anhydrase II* dibandingkan senyawa lainnya, meskipun ada 2 senyawa yang cukup baik juga yaitu *7,3',4'-Tri-O-methyluteolin* dan *Aurantiamide acetate* dalam menghambat enzim *carbonic anhydrase II* tetapi senyawa tersebut memiliki kekurangan dalam prediksi metabolisme memiliki inhibitor CYP3A4 yang dapat mengganggu proses metabolisme. Visualisasi ligan disajikan dalam Gambar 4 dan 5.



**Gambar 4.** Visualisasi 3D interaksi ligan *Damascenone* dengan reseptor *carbonic anhydrase II*



**Gambar 5.** Visualisasi 2D interaksi ligan *Damascenone* dengan reseptor *carbonic anhydrase II*

Dilihat dari visualisasi ligan *Damascenone* yang berinteraksi dengan reseptor *carbonic anhydrase II* memiliki 2 ikatan hidrogen, 1 ikatan diantaranya sama dengan jenis ikatan pada *Furosemid* yaitu Treonin A: 199 (THR A: 199). Terdapat 9 ikatan hidrofobik, 4 ikatan diantaranya sama dengan jenis ikatan pada *Furosemid* yaitu Valin A: 121 (VAL A: 121), Leusin A: 198 (LEU A: 198), Valin A: 143 (VAL A: 143), Valin A: 207 (VAL A: 207). Interaksi ligan yang fleksibel dengan reseptor dapat menyebabkan ikatan kimia selain ikatan hidrogen. Interaksi ini dapat berupa interaksi non kovalen atau non ikatan antara ligan dan reseptor, yang dapat meningkatkan afinitas ligan terhadap reseptor (Syahputra, Ambarsari L, and T 2014).

## 5. Kesimpulan

Hasil analisis *molecular docking* terhadap 21 senyawa menunjukkan bahwa salah satu senyawa yaitu *Damascenone*, memiliki aktivitas terhadap reseptor *Carbonic Anhydrase II* yang berpotensi untuk pengobatan antihipertensi. Senyawa *Damascenone* memiliki nilai RMSD sebesar 1,926 Å, energi ikatan sebesar -6,91 kcal/mol, dan konstanta inhibisi sebesar 8,57 µM. Selain itu, senyawa ini menunjukkan kemiripan interaksi asam amino dengan *native ligand*, di antaranya 1 ikatan hidrogen pada THR A: 199, serta 4 ikatan hidrofobik yang melibatkan VAL A: 121, LEU A: 198, VAL A: 143, dan VAL A: 207. *Damascenone* menunjukkan potensi sebagai kandidat antihipertensi yang lebih baik dibandingkan dengan 21 senyawa ligan uji lainnya, dengan kesamaan asam amino yang mendekati *native ligand*, nilai RMSD, energi bebas, dan konstanta inhibisi yang serupa dengan senyawa Furosemid. Potensi ini juga diperkuat oleh hasil analisis parameter ADME serta kesesuaian dengan aturan *Lipinski*.

## Kontribusi Penulis

GH melakukan pencarian ide dan analisis data. SE melakukan koreksi data dan penarikan kesimpulan. YAA melakukan penulisan manuskrip. LFS melakukan pencarian reseptor, ligan uji dan menjalankan pengujian melalui web server dan software *molecular docking*

## Daftar Pustaka

- Abdullah, Sriyana, Ibni Hajar Rukunudin, Abd Razak Shaari, and Muhammad Syarhabil Ahmad. 2013. "Moisture Adsorption Isotherms of Orthosiphon Stamineus Leaves" 3 (4): 357-59. <https://doi.org/10.7763/IJBBB.2013.V3.231>.
- Aleksandra Zhogoleva, Maria Alas, Sirli Rosenvald. 2023. "Characterization of Odor-Active Compounds of Various Pea Preparations by GC-MS, GC-O, and Their Correlation with Sensory Attributes,." *Future Foods* 8. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fufo.2023.100243>.
- Ameer, Omar Z., Ibrahim M. Salman, Mohammad Zaini Asmawi, Zaid O. Ibraheem, and Mun Fei Yam. 2012. "Orthosiphon Stamineus: Traditional Uses, Phytochemistry, Pharmacology, and Toxicology." *Journal of Medicinal Food* 15 (8): 678-90. <https://doi.org/10.1089/jmf.2011.1973>.
- Arwansyah, Laksmi Ambarsari, and Tony I Sumaryada. 2014. "Simulasi Docking Senyawa Kurkumin dan Analognya sebagai Inhibitor Enzim 12-Lipoksigenase." *Current Biochemistry* 1 (1): 11-19.
- Aslam, Sanah, and Vikas Gupta. 2023. "Carbonic Anhydrase Inhibitors." In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
- Azzahra, Yunita Al, Taufik Septiyan Hidayat, and Syumillah Saepudin. 2024. "Penambatan Molekul Senyawa Aktif Sirih (*Piper betle* L.) terhadap Reseptor Hsv-1 sebagai

- Kandidat Anti Herpes." *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Pharmacy (PSCP)* 2 (1): 21–26. <https://doi.org/10.61329/pscp.v2i1.22>.
- Carey, Robert M, Paul Muntner, Hayden B Bosworth, and Paul K Whelton. 2018. "Prevention and Control of Hypertension." *Journal of the American College of Cardiology* 72 (11): 1278-1293. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2018.07.008>.
- Deviana, Katerina Zielda, and Diniatik Diniatik. 2021. "Analisis Penambatan Molekuler dan Prediksi Toksisitas dan ADME Penghambat Enzim Dipeptidil Peptidase IV dari Senyawa Aktif *Momordica charantia* L. sebagai Antidiabetes." *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)* 18 (2): 361. <https://doi.org/10.30595/pharmacy.v18i2.8556>.
- Gimbun, Jolius, Sook Fun Pang, and Mashitah M Yusoff. 2019. *Orthosiphon Stamineus (Java Tea). Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812491-8.00047-3>.
- Hartanti IR, Putri AA, Auliya AS NN, Triadenda AL, Laelasari E, Suhandi C. 2022. "Molecular Docking Senyawa Xanton, Benzofenon, dan Triterpenoid sebagai Antidiabetes dari Ekstrak Tumbuhan *Garcinia cowa*." *J Kim* 16 (1): 72.
- Kamran, Ashraf, Sadia Sultan, and Aishah Adam. 2018. "Orthosiphon Stamineus Benth. Is an Outstanding Food Medicine: Review of Phytochemical and Pharmacological Activities." *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences* 10(3): 109–18. [https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS\\_253\\_17](https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_253_17).
- Krihariyani, Dwi, Retno Sasongkowati, and Edy Haryanto. 2020. "Studi *In Silico* Sifat Farmakokinetik, Toksisitas, dan Aktivitas Imunomodulator Brazilein Kayu Secang terhadap Enzim 3-Chymotrypsin-Like Cysteine Protease Coronavirus." *Journal of Indonesian Medical Laboratory and Science* 1 (1): 76–90. <https://doi.org/10.53699/joimedlabs.v1i1.14>.
- Morris-scha, Keith, and Michael J Mccoy. 2021. "A Review of the LD 50 and Its Current Role in Hazard Communication." *ACS Chemical Health & Safety* 28 (1): 25-33 <https://doi.org/10.1021/acs.chas.0c00096>.
- Nabilla Cahyani, Farmasita, Rachmawati Ardiana, Dewi Uswatun Khasanah, Adinda Sukma Dewi, and Oktavia Rahayu Adianingsih. 2021. "Pengembangan dan Optimasi Kapsul Mikrosfer Ekstrak Licorice sebagai Bentuk Sediaan Oral *Extended Release* Kanker Payudara." *Pharmaceutical Journal of Indonesia* 7 (1): 63–70. <https://doi.org/10.21776/ub.pji.2021.007.01.10>.
- Novian, Arista. 2013. "Kepatuhan Diet Pasien Hipertensi." *Jurnal Kesehatan Masyarakat* 9 (1): 100–105.
- Nursamsiar, Alprida Tandi Toding, and Akbar Awaluddin. 2016. "Studi *In Silico* Senyawa Analog Kalkon dan Pirmidin sebagai Antiinflamasi: Prediksi Absorpsi, Distribusi, dan Toksisitas." *Pharmacy: Jurnal Farmasi Indonesia* 13 (01): 92–100.

- Nursanti, Okta. 2016. "Validasi Penambatan Molekul untuk Mendapatkan Ligan Aktif pada Reseptor Cyclooxygenase 2." *Prosiding Seminar Informasi Kesehatan Nasional SIKesNas 2021*: 411-430. <https://doi.org/10.47701/sikenas.v0i0.1280>.
- Pires DEV, Blundell TL, Ascher DB. 2015. "Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures." *Med Chem* 68 (9): 4066-72. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00104>.
- Roumeliotis, Stefanos, and Athanasios Roumeliotis. 2020. *Biomarkers of Vascular Calcification in Serum. Advances in Clinical Chemistry*. 1st ed. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/bs.acc.2020.02.004>.
- Ruswanto, Ruswanto. 2015. "Molecular Docking Empat Turunan Isonicotinohydrazide pada *Mycobacterium tuberculosis* Enoyl-Acyl Carrier Protein Reductase (InhA)." *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-Ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan dan Farmasi* 13 (1): 135-41. <https://doi.org/10.36465/jkbth.v13i1.25>.
- Sukmawaty, Eka, Susi Susanti, and Masriany Masriany. 2021. "Penambatan Molekuler Senyawa Cendawan Endofit *Trichoderma* Sp. sebagai Inhibitor Protein Low Density Lipoprotein, Enzim Lanasterol 14 Demetilase dan Lipase yang Bertanggung Jawab dalam Dermatitis Seboroik." *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina (JIIS): Ilmu Farmasi Dan Kesehatan* 6 (1): 98-107. <https://doi.org/10.36387/jiis.v6i1.636>.
- Syahputra, G, Ambarsari L, and Sumaryada T. 2014. "Simulasi Docking Kurkumin Enol, Bisdemetoksikurkumin dan Analognya sebagai Inhibitor Enzim 12-Lipoksigenase." *Biofisika* 10 (1): 55-67.
- Trott, Oleg, and Arthur J Olson. 2012. "Software News and Updates Gabedit – A Graphical User Interface for Computational Chemistry Softwares." *Journal of Computational Chemistry* 32: 174-82. <https://doi.org/10.1002/jcc>.
- Wang, X., Zhao, W., Zhang, X., Wang, Z., Han, C., Xu, J., Yang, G., Peng, J., & Li, Z. 2023. "An Integrative Analysis to Predict the Active Compounds and Explore Polypharmacological Mechanisms of *Orthosiphon stamineus* Benth." *Computers in Biology and Medicine* 163. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.compbiomed.2023.107160>.
- Wang, Xingqiang, Weiqing Zhao, Xiaoyu Zhang, Zongqing Wang, Chang Han, Jiapeng Xu, Guohui Yang, Jiangyun Peng, and Zhaofu Li. 2023. "An Integrative Analysis to Predict the Active Compounds and Explore Polypharmacological Mechanisms of *Orthosiphon stamineus* Benth ." *Computers in Biology and Medicine* 163 (June): 107160. <https://doi.org/10.1016/j.compbiomed.2023.107160>.
- Yam, Mun Fei, Chu Shan Tan, and Ruan Shibao. 2018. "Vasorelaxant Effect of Sinensetin via the NO/SGC/CGMP Pathway and Potassium and Calcium Channels." *Hypertension Research* 41 (10): 787-97. <https://doi.org/10.1038/s41440-018-0083-8>.

Zakaria, N. H., F. A.A. Majid, N. A.N.M. Helmi, A. Fadhlina, and H. I. Sheikh. 2023. "Medicinal Potentials of *Strobilanthes crispus* (L.) and *Orthosiphon stamineus* Benth. in the Management of Kidney Stones: A Review and Bibliometric Analysis." *Journal of Herbal Medicine* 42 (December): 100773. <https://doi.org/10.1016/J.HERMED.2023.100773>.