



In Silico Study of Bioactive Compounds in Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* Burm. F. Nees) as HIV-1 Reverse Transcriptase Inhibitor

Studi In Silico Senyawa Bioaktif pada Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* Burm. F. Nees) sebagai HIV-1 Reverse Transcriptase Inhibitor

Andri Prasetyo^{1*}, Titiiek Martati¹, Putri Windari Saputra¹

¹Faculty of Pharmacy, Universitas Pancasila, Jl. Lenteng Agung Raya No.56, RT.1/RW.3, Srengseng Sawah, Jagakarsa, South Jakarta, Jakarta, Indonesia.

*Corresponding author: andriprasetyo@univpancasila.ac.id; 081286546148

Received April 17, 2023; Accepted March 13, 2024; Available online May 03, 2024

ABSTRACT

A medicinal plant known as sambiloto (*Andrographis paniculata* Burm. F. Nees) contains certain active compounds that potentially are anti-HIV. However, it is not yet known which compounds are involved in inhibiting HIV activity. This study aimed to identify potentially active compounds from the sambiloto plant that could inhibit the HIV-1 reverse transcriptase enzyme using the in-silico method. In silico methods that will be carried out are internal validation, molecular docking, ADMET prediction, and molecular dynamics. The molecular docking results showed that the five best compounds have potential as anti-HIV drugs compared to *efavirenz* with the rerank score -152.119 until -125.177 kcal/mol. In contrast, the rerank score of the comparison ligand is -94.7639 kcal/mol. The ADMET prediction showed that the selected compounds have a good pharmacokinetics profile and are nontoxic. The molecular dynamic results showed that *deoxy-11,12-didehydroandrographiside* and *andrographiside* are stable and have potential as anti-HIV drugs with average RMSD values of 1.88 and 2.02 Å while the comparison ligand is 1.67 Å.

Keywords: Anti-HIV, HIV-1 RT inhibitors, *Andrographis paniculata*, In silico

ABSTRAK

Herba sambiloto merupakan tanaman obat yang berpotensi menghambat aktivitas HIV, namun belum diketahui senyawa spesifik mana yang terlibat dalam penghambatan aktivitas HIV. Penelitian ini dilakukan untuk mencari senyawa-senyawa aktif potensial yang terdapat pada herba sambiloto sebagai penghambat enzim HIV-1 RT secara *in silico*. Metode *in silico* yang akan dilakukan, yaitu *molecular docking*, prediksi ADMET dan *molecular dynamic*. Hasil *molecular docking* diperoleh menunjukkan lima senyawa memiliki nilai *rerank score* yaitu -152.119 sampai -125.177 kcal/mol dan senyawa *efavirenz* sebagai pembanding memiliki nilai *rerank score* -94.7639 kcal/mol. Hasil prediksi ADMET menyatakan bahwa senyawa terpilih memiliki profil farmakokinetik baik dan tidak toksik. Terdapat dua senyawa yaitu *deoxy-11,12-didehydroandrographiside* and *andrographiside* memiliki ikatan yang stabil dengan nilai RMSD rata-rata sebesar 1.88 and 2.02 Å. Senyawa *deoxy-11,12-didehydroandrographiside* and *andrographiside* memiliki potensi sebagai penghambat enzim HIV-1 RT.

Kata Kunci: Anti-HIV, Penghambat enzim HIV-1 RT, *Andrographis paniculata*, In silico

PENDAHULUAN

HIV (*Human Immunodeficiency Virus*) merupakan virus yang menginfeksi atau menyerang sel darah putih lebih spesifiknya adalah sel *cluster of differentiation* (CD4) dan mengakibatkan turunnya imunitas tubuh individu yang terinfeksi serta dapat menimbulkan infeksi oportunistik. *Acquired Immuno-Deficiency Syndrome* (AIDS) merupakan sekumpulan gejala yang menyebabkan menurunnya imunitas tubuh yang diakibatkan oleh virus HIV (Abdullah et al., 2021). Berdasarkan data dari Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, jumlah kasus HIV yang tercatat hingga Maret 2021 sebanyak 427.201 orang (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2019). Jumlah pengidap HIV/AIDS bagaikan fenomena gunung es, di mana jumlah pengidap yang dilaporkan lebih sedikit daripada jumlah pengidap yang sebenarnya (Merati et al., 2021).

Tatalaksana utama pengidap HIV/AIDS adalah pemberian antiretroviral yang memiliki tujuan untuk menghentikan replikasi virus (Putra, 2021). Lini pertama obat antiretroviral adalah kombinasi dua *nucleotide reverse transcriptase inhibitors* (NRTI) ditambah satu *non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors* (NNRTI) atau *protease inhibitor* (PI) (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2019). Permasalahan yang timbul dari pemberian obat antiretroviral ialah efek samping obat. Timbulnya efek samping kerap menjadi alasan pasien untuk mengganti pengobatan antiretroviral dan bahkan berhenti dari pengobatan tersebut. Efek samping minor dari penggunaan obat antiretroviral dapat mengakibatkan penderita enggan untuk minum obat. Efek samping dari obat antiretroviral dapat mengurangi kualitas hidup pasien. Oleh sebab itu, upaya pencarian obat baru perlu dilakukan untuk mengatasi masalah tersebut (Maeda et al., 2019).

Secara farmakologi, herba sambiloto terbukti memiliki aktivitas hepatoprotektif, neuroprotektif, antiinflamasi, imunomodulator, antibakteri, antidiabetes dan anti-HIV (Jiang et al., 2021; Mehta et al., 2021). Pada penelitian terdahulu dinyatakan bahwa *andrographolide* yang merupakan salah satu senyawa dalam herba sambiloto dapat meningkatkan nilai limfosit CD4 yang mungkin merupakan akibat dari penghambatan disregulasi siklus sel (Intharuksa et al., 2022). Menurut penelitian *in-silico*, hasil *molecular docking* menunjukkan bahwa senyawa dalam sambiloto, yaitu *bisandrorapholide* dan *phytol* memiliki potensi sebagai anti-HIV dibandingkan

dengan *amprenavir* sebagai ligan pembanding (Manalu et al., 2022).

Metode *in silico* merupakan metode yang menggunakan ilmu dalam bidang informatika dalam mengidentifikasi potensi senyawa baru sebagai kandidat obat secara komputerisasi (Agamah et al., 2020). *Molecular docking* bertujuan untuk melakukan penapisan senyawa yang akan diuji secara *in vitro* sehingga proses elusidasi, isolasi dan ekstraksi serta uji aktivitas senyawa menjadi lebih efisien dan efektif (Prasetyo et al., 2019). *Molecular docking* dilakukan menggunakan program *Molegro Virtual Docker* (MVD). MVD terbukti mampu mengidentifikasi mode pengikatan yang akurat pada 87% kompleks. Sebagai perbandingan, akurasi Glide dan Surflex masing-masing adalah 82% dan 75% (Thomsen & Christensen, 2006). MVD memiliki empat algoritma pencarian: *MolDock Optimizer*, *Iterated Simplex*, *MolDock Simplex Evolution* dan *Iterated Simplex with Ant Colony Optimization*. MVD memiliki 16 kombinasi untuk 4 algoritma dan 4 *scoring functions* (Bitencourt-Ferreira & de Azevedo, 2019).

Pada penelitian ini akan dilakukan pencarian senyawa-senyawa aktif yang berkhasiat dari herba sambiloto sebagai penghambat enzim HIV-1 RT secara *in-silico*. Kesalahan utama dalam *molecular docking* adalah salah tempat pengikatan protein target (Chen, 2015), sehingga perlu dilakukan validasi dengan cara *redocking* dilakukan sebelum *molecular docking*. Hasil *molecular docking* akan diuji ADMET dan di validasi dengan *molecular dynamic*. Simulasi *molecular dynamic* dilakukan untuk mengkonfirmasi stabilitas terkait pembentukan kompleks ligan dengan protein (Rani et al., 2020).

METODE

1. Bahan

Reseptor target diunduh dari Protein Data Bank (PDB), yaitu HIV-1 reverse transcriptase enzyme (PDB ID: 1FK9). Bahan dari ligan uji dan ligan pembanding didapatkan dari mengunduh senyawa dalam bentuk mol2 di website PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Diperoleh 39 senyawa uji yang didapat dari hasil penelusuran pustaka dan 1 senyawa pembanding, yaitu *andrographolide*, *14-deoxy-11,12,dehydroandrographolide*, *neoandrographolide*, *andrographosphoside*, *14-deoxy-11-hydroxyandrographolide*, *14-deoxyandrographolide*, *dehydroandrographolide*, *14-deoxy-*

11,12,dydehydroandrographiside, isoandrographolide, andrographiside, bisandrographolide A, bisandrographolide B, bisandrographolide C, 3,14-dideoxyandrographolide, andrographin, panicolin, 7-O-methylhydroxogonin, apigenin-7,4'-dimethylether, 7-O-methylwogonin, 5-hydroxy-7, 8, 2', 3'-tetramethoxyflavone, 5, 4' -dihydroxy-7, 8, 2', 3' -tetramethoxyflavone, dihydroscullcapflavone, andrographidine C, apigenin, luteolin, isoscutellarein, 8-acetylharpagide, procumbide, andrographidoid A, andrographidoid B, andrographidoid C, andrographidoid D, andrographidoid E, caffeic acid, ferulic acid, protocatechuic acid, cinnamic acid, oleanolic acid, serpyllin dan efavirenz.

2. Alat (Hardware, software dan webserver)

Peralatan computer yang digunakan pada studi ini antara lain Microsoft Windows 10 Pro 64-bit operation system dengan prosesor Intel® Core™ i5 9400 CPU @ 2.90GHz 2.90 GHz, memori 16 GB DDR3, grafis NVIDIA GTX 1660 dan HP ENVY x360 Convertible 15-ee1xxx Microsoft Windows 11 Home (64-bit) 1.80 GHz, AMD Ryzen 7 5700U 11.33 GB DDR4 SDRAM 1596 MHz. Software Molegro Virtual Docker 6.0, ChemDraw, YASARA Dynamics dan website Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>), pkCSM (<https://bioswissig.lab.uq.edu.au/pkcsm/>), SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>), PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).

3. Pemilihan Protein Target

Kristal struktur dari enzim HIV-1 reverse transcriptase dengan kode (PDB ID: 1FK9) diunduh dari web *Protein Data Bank* (<https://www.rcsb.org/>). Protein dipilih berdasarkan studi *docking* dengan beberapa kriteria berikut: kristal protein didapatkan menggunakan metode *x-ray diffraction* dari HIV-1 virus dan memiliki resolusi di bawah 2.5 Å dan memiliki *native ligand* yang sudah disetujui oleh FDA (Prasetyo et al., 2022)

4. Preparasi Senyawa Uji dan Senyawa Pemanding

Canonical SMILES dari senyawa uji dan pemanding disalin dari website *PubChem*, lalu ditempatkan ke dalam ChemDraw. Dilakukan minimisasi dengan menjalankan command “*Minimize energy*” hal ini dilakukan untuk mendapatkan isomer geometri senyawa dengan energi paling minimum, kemudian file setiap senyawa disimpan dalam format SYBYL2 (.mol2).

5. Validasi Internal

Validasi metode *docking* dilakukan dengan melakukan *docking* kembali struktur kristal dari enzim HIV-1 *reverse transcriptase* (PDB ID: 1FK9). Validasi internal dilakukan menggunakan software *Molegro Virtual Docker*. Pose maksimal dalam proses validasi internal adalah 5 dengan 10 kali replikasi dan dijalankan dengan 12 kombinasi dari 4 *scoring function* dan 3 algoritma. Tujuan dilakukan validasi internal adalah untuk mencari protokol *docking* yang sesuai. Validasi internal dikatakan berhasil jika nilai RMSD dibawah 2 Å (Siswanto et al., 2019)

6. Molecular Docking

Molecular docking dilakukan menggunakan program *Molegro Virtual Docker*. Sebanyak 39 senyawa uji dalam herba sambiloto dan efavirenz (ligan standar) didockingkan dengan kristal struktur HIV-1 *reverse transcriptase enzyme* (PDB ID: 1FK9). *Binding site* aktif didapatkan dari hasil validasi internal dengan nilai axis X: 1.73 Å, Y: -36.48 Å, Z: 20.86 Å. Algoritma yang digunakan untuk melakukan *molecular docking*, yaitu *Moldock Optimizer* dan *Moldock Score* digunakan sebagai *scoring function*. *Rerank score* merupakan parameter yang diukur untuk melihat nilai energi. Energi ikatan antara ligan dengan reseptor akan semakin stabil dan dinyatakan memiliki aktivitas jika nilai *rerank score* semakin rendah atau semakin negatif. Nilai *rerank score* senyawa uji dibandingkan dengan *rerank score* senyawa pemanding. Jika nilai *rerank score* senyawa uji sama atau lebih rendah (lebih negatif) dari senyawa pemanding, maka senyawa uji diprediksi memiliki aktivitas lebih tinggi atau sesuai dari senyawa pemanding (Prasetyo et al., 2023).

7. Prediksi ADMET

Dilakukan prediksi profil farmakokinetik dan toksisitas dari senyawa terbaik. *Canonical SMILES* dari setiap senyawa disalin dari web (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), lalu dianalisis dalam web pkCSM (<https://bioswissig.lab.uq.edu.au/pkcsm/>) dan SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>).

8. Simulasi Molecular Dynamic

Simulasi dinamika molekular dilakukan menggunakan perangkat lunak *YASARA Dynamics*. Langkah yang dilewati antara lain persiapan dan produksi. Pemilihan perangkat lunak *Yasara dynamics* dengan alasan perangkat tersebut mudah

digunakan karena dapat berbasis window (Ozvoldik et al., 2023). *Script* default dimodifikasi dengan

menyesuaikan beberapa variabel, yaitu suhu sebesar 310 K, pH fisiologis sebesar 7.4. Diatur juga konsentrasi ion sebagai fraksi masa, yaitu NaCl 0.9%. Kemudian diatur durasi simulasi *molecular dynamic*, yaitu 5000 ps (5 ns). Simulasi *molecular dynamic* ini menggunakan *forcefield* AMBER14 dan penyimpanan *snapshot* setiap 100 ps. *Running protein* yang akan diMD dengan menjalankan perintah "Play macro". Analisis RMSD dapat dilakukan dengan menjalankan perintah *md_analyze.mcr*. Analisis RMSF dapat dilakukan dengan menjalankan perintah *md_analyzeres.mcr*.

HASIL & PEMBAHASAN

1. Validasi Internal

Validasi internal dilakukan dengan melakukan *re-docking native ligand* terhadap protein target

terpilih, yaitu HIV-1 *reverse transcriptase enzyme* (PDB ID: 1FK9) menggunakan 12 kombinasi dari algoritma dan *scoring function*. RMSD (*Root Mean Square Deviation*) menjadi parameter paling umum untuk mengukur kemiripan sumperimpose koordinat secara atomic (Kufareva & Abagyan, 2012).

Keberhasilan *redocking* dilihat dari nilai RMSD. Nilai RMSD yang baik adalah dibawah 2 Å dibandingkan dengan struktur kristalografi. Nilai RMSD dari *native ligand* (PDB ID: 1FK9) menunjukkan dibawah 1 Å untuk 12 kombinasi *scoring functions* dan algoritma. Hal itu menunjukkan bahwa 12 protokol *docking* tersebut bisa memposisikan HIV-1 RT *inhibitor* pada HIV-1 RT *binding site*. Kombinasi algoritma *MolDock Optimizer* dan *scoring function MolDock Score* menghasilkan nilai RMSD yang paling negatif, maka dengan itu kombinasi algoritma dan *scoring function* dipilih sebagai protokol *docking* (Tabel 1).

Tabel 1. Root-Mean-Square Deviation dari Protein Data Bank Code 1FK9

| Algorithm | MolDock Optimizer (Å) | MolDock SE (Å) | Iterated Simplex (Å) |
|-------------------------|-----------------------|----------------|----------------------|
| Scoring Function | | | |
| MolDock Score | 0.219052 | 0.219549 | 0.220836 |
| MolDock (Grid) Score | 0.247339 | 0.225856 | 0.2506 |
| PLANTS Score | 0.2581 | 0.265188 | 0.257455 |
| PLANTS (Grid) Score | 0.308072 | 0.274803 | 0.289441 |

2. Molecular Docking

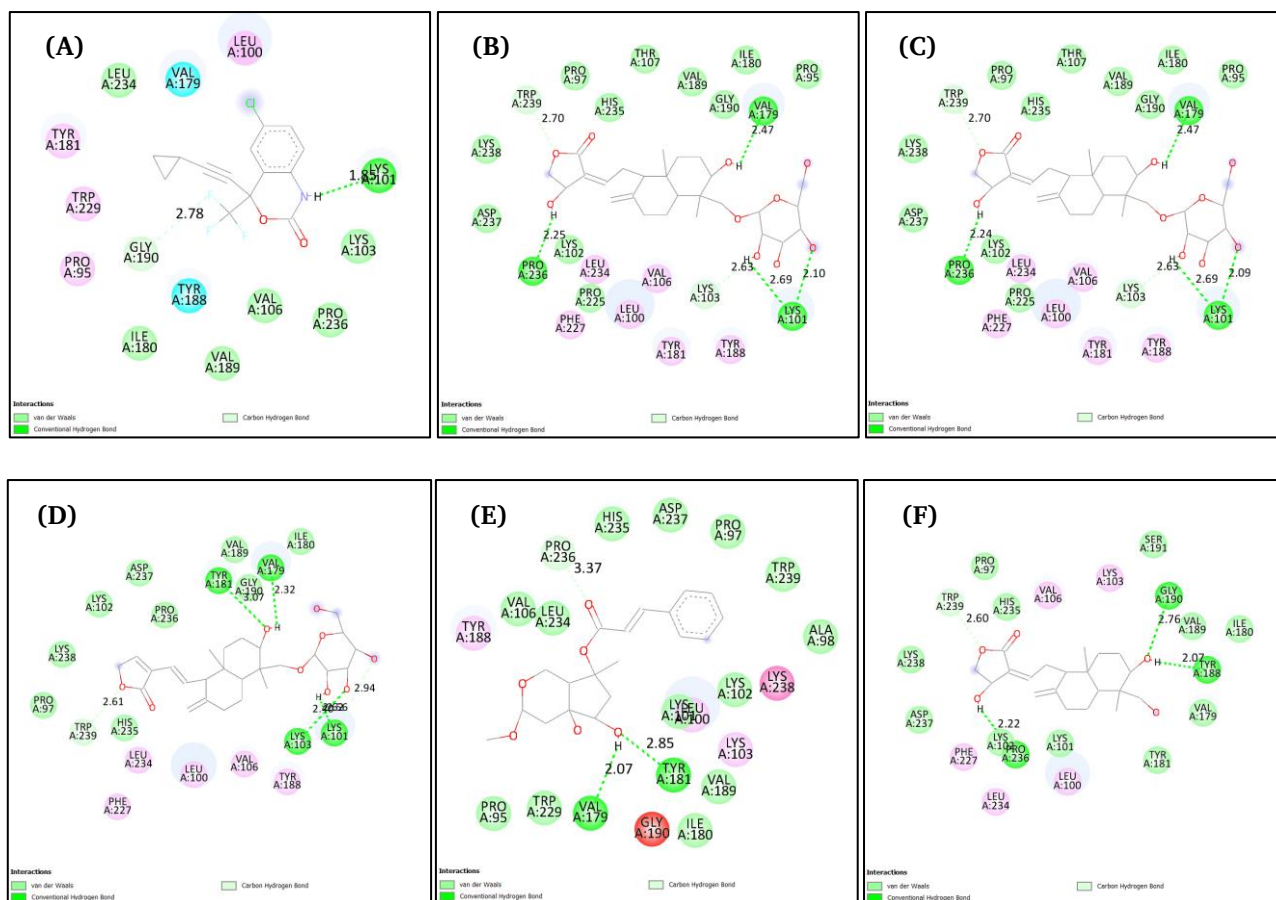
Simulasi *molecular docking* 39 senyawa uji herba sambiloto dan *efavirenz (standard compound)* dilakukan menggunakan kombinasi algoritma *MolDock Optimizer* dan *scoring function MolDock Score*. *Efavirenz* merupakan anti-HIV golongan NNRTI yang telah diapproved oleh *Food Drug Association* (FDA). *Rerank score* merupakan nilai yang dilihat untuk mengestimasi pengikatan ligan, dimana jika semakin negatif nilainya maka afinitasnya semakin tinggi (Prasetyo et al., 2022).

Berdasarkan hasil *molecular docking*, didapatkan 5 senyawa dengan nilai *rerank score* paling negatif dibandingkan dengan *efavirenz* sebagai senyawa pembanding (Tabel 2). Semakin negatif nilai *rerank score* maka semakin stabil dan aktif ikatan antara senyawa dengan reseptor. Berdasarkan *rerank score*, diprediksi bahwa 5 senyawa tersebut lebih aktif dibandingkan dengan *efavirenz*.

Interaksi ikatan hidrogen kompleks protein-ligan setelah proses *molecular docking* ditunjukkan pada gambar (Gambar 1). Interaksi yang terjadi pada setiap ligan melibatkan residu asam amino pada area *binding site* yang kemudian akan memengaruhi konformasi protein. Ligan pembanding (*efavirenz*) memiliki tempat pengikatan (ikatan hidrogen) pada dua residu asam amino, yaitu LYS 101 (1.85 Å) dan GLY 190 (2.78 Å). Pada *efavirenz*, residu asam amino LYS 101 berikatan dengan atom H pada gugus amin. Pada senyawa *andrographiside, andrographoside dan 4-deoxy-11,12-didehydroandrographiside* residu asam amino LYS 101 berikatan dengan atom H pada gugus hidroksil. Jarak interaksi ikatan hidrogen yang dihasilkan, yaitu 1.85-2.63 Å. Semakin dekat jarak ikatan antara ligan uji dengan asam amino pada reseptor, maka semakin terikat kuat senyawa dengan protein target (Sulistiyowaty et al., 2023).

Tabel 2. Hasil *molecular docking* HIV-1 reverse transcriptase enzyme dengan *ligand*

| No. | Senyawa | Rerank score | Residu asam amino |
|-----|--|--------------|--|
| 1. | <i>Efavirenz</i> | -94.7639 | LYS 101 (1.85 Å), GLY 190 (2.78 Å) |
| 2. | <i>Andrographiside</i> | -152.119 | LYS 101 (2.10 Å), LYS 101 (2.63 Å), PRO 236 (2.25 Å), VAL 179 (2.47 Å) |
| 3. | <i>Andrographoside</i> | -152.045 | LYS 101 (2.09 Å), LYS 101 (2.63 Å), PRO 236 (2.24 Å), VAL 179 (2.47 Å) |
| 4. | <i>14-deoxy-11,12-didehydroandrographiside</i> | -147.173 | LYS 101 (2.40 Å), VAL 179 (2.32 Å), TYR 181 (3.07 Å), TRP 239 (2.61 Å) |
| 5. | <i>Andrographidoid A</i> | -125.322 | TYR 181 (2.85 Å), VAL 179 (2.07 Å), PRO 236 (3.37 Å) |
| 6. | <i>Andrographolide</i> | -125.177 | LYS 102 (2.22 Å), GLY 190 (2.76 Å), TRP 239 (2.60 Å), TYR 188 (2.07 Å) |



Gambar 1. Interaksi Ikatan Hidrogen antara Ligan dan Reseptor Asam Amino. (A) *efavirenz*; (B) *andrographiside*; (C) *andrographoside*; (D) *14-deoxy-11,12 didehydroandrographiside*; (E) *andrographidoid A*; (F) *andrographolide*.

3. ADMET Prediction

Profil farmakokinetik seperti absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi dan toksisitas dari senyawa terbaik dapat diprediksi menggunakan *webserver pkCSM* (Toksisitas) dan *SwissADME* (absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi) dengan memasukkan *canonical SMILES* dari senyawa uji. Mengetahui profil farmakokinetika serta toksisitas

senyawa uji berguna untuk memprediksi sifat farmakologis dan toksikologi kandidat obat, terutama pada tahap praklinis.

Profil absorpsi senyawa diprediksi dari nilai kelarutan senyawa dalam air, lipofilisitas (kelarutan senyawa dalam lemak) dan persentase *human intestinal absorption* (HIA) (Tabel 3). Kelarutan senyawa dalam air diprediksi menggunakan *web SwissADME*. Jika nilai kelarutan senyawa obat dalam

air rendah, maka kelarutan di dalam cairan luar sel juga akan berkurang, sedangkan kelarutan senyawa dalam cairan luar sel berhubungan dengan proses transpor obat ke reseptor. Hal ini akan menyebabkan aktivitas biologis menurun (Echeverría et al., 2017). Dalam skala SwissADME, senyawa dengan nilai kurang dari (lebih negatif dari) -6 maka kelarutannya

buruk. Nilai kelarutan dalam air untuk senyawa uji diperkirakan, yaitu -6.82 hingga 3.39. Adapun tiga senyawa, yaitu *andrographoside*, *andrographiside* dan *14-deoxy-11,12-didehydroandrographiside* yang akan dilakukan *molecular dynamic* memiliki kelarutan dalam air yang sangat baik.

Tabel 3. Profil Absorpsi Senyawa Uji

| No. | Senyawa uji | Absorpsi | | |
|-----|--|---------------------------------|---------------|---------------------------------|
| | | Kelarutan dalam air (log mol/L) | Lipofilisitas | Human Intestinal Absorption (%) |
| 1. | <i>Andrographiside</i> | -0.93 | 0.62 | 36.489 |
| 2. | <i>Andrographoside</i> | -0.93 | 0.62 | 36.489 |
| 3. | <i>14-deoxy-11,12-didehydroandrographiside</i> | -1.16 | 1.25 | 49.531 |
| 4. | <i>Andrographidoid A</i> | -2.75 | 1.8 | 96.223 |
| 5. | <i>Andrographolide</i> | -2.69 | 2.3 | 95.357 |

Lipofilisitas atau kelarutan senyawa dalam lemak diprediksi menggunakan *web swissADME*. Terdapat salah satu sifat fisik yang mempengaruhi absorpsi ke membran biologis, yaitu kelarutan obat dalam lemak. Jika nilai kelarutan dalam lemak semakin besar, maka semakin besar pula derajat absorpsi obat ke dalam membran biologis. Jika absorpsi makin tinggi maka akan menyebabkan aktivitas biologis yang lebih tinggi pula (Paruch et al., 2021). Panduan umum untuk bioavailabilitas oral yang baik (permeabilitas dan kelarutan yang baik) adalah memiliki log P sedang ($0 < \log P < 3$). Untuk senyawa uji berkisar antara -5.62 hingga 5.27. Adapun tiga senyawa, yaitu *andrographoside*, *andrographiside* dan *14-deoxy-11,12-didehydroandrographiside* yang akan dilakukan

molecular dynamic memiliki kelarutan dalam lemak yang baik.

Persentase senyawa uji yang akan diserap melalui usus manusia (% HIA) diprediksi menggunakan *pkCSM-farmakokinetik*. Semakin besar nilai %HIA maka aktivitas biologis yang ditimbulkan oleh senyawa akan semakin tinggi. Jika %HIA <30% maka absorpsi senyawa dalam usus manusia dianggap kurang baik (Hardjono, 2015). Senyawa uji memiliki nilai %HIA berkisar antara 20.029% hingga 100%. Adapun tiga senyawa, yaitu *andrographoside*, *14-deoxy-11,12-didehydroandrographiside* dan *andrographiside* yang akan dilakukan *molecular dynamic* memiliki nilai %HIA yang baik dengan nilai tertinggi senyawa *14-deoxy-11,12-didehydroandrographiside* sebesar 49.531%.

Tabel 4. Profil Distribusi Senyawa Uji

| No. | Senyawa uji | Distribusi | | |
|-----|--|-----------------|------------------|------------------|
| | | VDss (log L/kg) | Fraction unbound | BBB permeability |
| 1. | <i>Andrographiside</i> | -0.402 | 0.421 | -1.096 |
| 2. | <i>Andrographoside</i> | -0.402 | 0.421 | -1.096 |
| 3. | <i>14-deoxy-11,12-didehydroandrographiside</i> | -0.398 | 0.38 | -1.107 |
| 4. | <i>Andrographidoid A</i> | -0.113 | 0.297 | -0.143 |
| 5. | <i>Andrographolide</i> | -0.286 | 0.281 | -0.598 |

Profil distribusi dilihat dari nilai VDss (*Volume Distribution at steady state*), BBB permeability dan fraksi tak terikat (Tabel 4). Profil distribusi diprediksi menggunakan *web pkCSM*. Volume distribusi merupakan volume teoritis yang menunjukkan dosis total obat yang didistribusikan untuk memberikan konsentrasi yang sama seperti di

dalam plasma darah. Obat akan semakin didistribusikan ke jaringan daripada plasma ketika nilai VDss tinggi. Senyawa uji dikatakan memiliki VDss yang rendah bila nilai Log VD < -0.15, dan memiliki VDss yang tinggi bila nilai Log VD > 0.45 (Hardjono et al. 2017). Nilai VDss senyawa uji yang diprediksi, yaitu -0.402 hingga -0.113. Adapun tiga

senyawa, yaitu *andrographoside*, *andrographiside* dan *14-deoxy-11,12-didehydroandrographiside* yang akan dilakukan *molecular dynamic* memiliki nilai VD_s yang *moderate*.

Blood brain barrier adalah parameter yang dilihat untuk mengurangi efek samping dan toksisitas serta meningkatkan khasiat obat yang aktivitas farmakologinya ada di dalam otak. Jika nilai Log BB > 0.3, maka senyawa tersebut dikatakan dapat menembus *blood brain barrier* dengan sangat baik. Jika nilai Log BB < -1.0, maka senyawa tidak dapat menembus *blood brain barrier* dengan baik (Hardjono, 2015). Dalam hal ini, senyawa tidak boleh menembus BBB, karena senyawa yang diuji bukan diperuntukkan untuk sistem syaraf pusat. Nilai permeabilitas BBB senyawa uji diperkirakan sekitar -1.107 hingga -0.598. Adapun tiga senyawa, yaitu

andrographoside, *andrographiside* dan *14-deoxy-11,12-didehydroandrographiside* yang akan dilakukan *molecular dynamic* memiliki profil yang baik karena tidak mampu menembus *blood brain barrier*.

Obat dalam plasma sebagian besar berada dalam keseimbangan antara keadaan terikat dan tidak terikat pada protein plasma. Efikasi pemberian obat dapat dipengaruhi oleh hal ini. Semakin banyak obat yang terikat pada protein dalam darah, maka semakin tidak efisien obat dalam melewati membran sel. Nilai fraksi tak terikat yang diprediksi untuk senyawa uji, yaitu 0.281 hingga 0.421. Adapun tiga senyawa, yaitu *andrographoside*, *andrographiside* dan *14-deoxy-11,12-didehydroandrographiside* yang akan dilakukan *molecular dynamic* memiliki nilai yang *moderate* jika dibandingkan dengan senyawa uji yang lainnya.

Tabel 5. Profil Metabolisme dan Ekskresi Senyawa Uji

| No. | Senyawa uji | Metabolisme | | | | Ekskresi |
|-----|--|-----------------|------------------|-----------------|------------------|-------------------------------|
| | | Substrat CYP2D6 | Inhibitor CYP2D6 | Substrat CYP3A4 | Inhibitor CYP3A4 | Klirens total (log/ml/min/kg) |
| 1. | <i>Andrographiside</i> | No | No | No | No | 1.018 |
| 2. | <i>Andrographoside</i> | No | No | No | No | 1.018 |
| 3. | <i>14-deoxy-11,12-didehydroandrographiside</i> | No | No | No | No | 0.99 |
| 4. | <i>Andrographidoid A</i> | No | No | No | No | 1.314 |
| 5. | <i>Andrographolide</i> | No | No | Yes | No | 1.183 |

Sitokrom P450 merupakan enzim umumnya ada pada hati dan sangat penting bagi tubuh. Sitokrom P450 berfungsi untuk merubah senyawa obat aktif menjadi nonaktif dengan cara mengoksidasi (Abdullah et al., 2021). Adapun tiga senyawa, yaitu *andrographoside*, *14-deoxy-11,12-didehydroandrographiside* dan *andrographiside* yang akan dilakukan *molecular dynamic* tidak menghambat sitokrom CYP2D6, sehingga senyawa turunan tersebut dimetabolisme oleh enzim P450 (**Tabel 5**).

Profil ekskresi senyawa dapat diketahui dengan mengukur total *klirens*. Total *klirens* merupakan kombinasi dari *klirens* ginjal dan *klirens* hati. Nilai

total *klirens* berkaitan dengan bioavailabilitas obat serta berguna untuk menentukan tingkat dosis dalam mencapai konsentrasi (Abdullah et al., 2021). Ekskresi nilai senyawa uji diprediksi, menggunakan deskriptor izin total (CL_{tot}) dari pkCSM-farmakokinetik, berkisar antara 0.99 hingga 1.314 log ml/min/kg. Adapun dari tiga senyawa, yaitu *andrographoside*, *andrographiside* dan *14-deoxy-11,12-didehydroandrographiside* yang akan dilakukan *molecular dynamic*, nilai *total clearance* tertinggi dimiliki oleh senyawa *andrographoside* dan *andrographiside* sehingga senyawa tersebut paling cepat diekskresikan dari tubuh.

Tabel 6. Profil Toksisitas Senyawa Uji

| No. | Senyawa uji | Toksisitas | |
|-----|--|---------------|--------------|
| | | LD50 (mol/kg) | Hepatotoksik |
| 1. | <i>Andrographiside</i> | 2.453 | No |
| 2. | <i>Andrographoside</i> | 2.453 | No |
| 3. | <i>14-deoxy-11,12-didehydroandrographiside</i> | 2.519 | No |
| 4. | <i>Andrographidoid A</i> | 2.651 | No |
| 5. | <i>Andrographolide</i> | 2.162 | No |

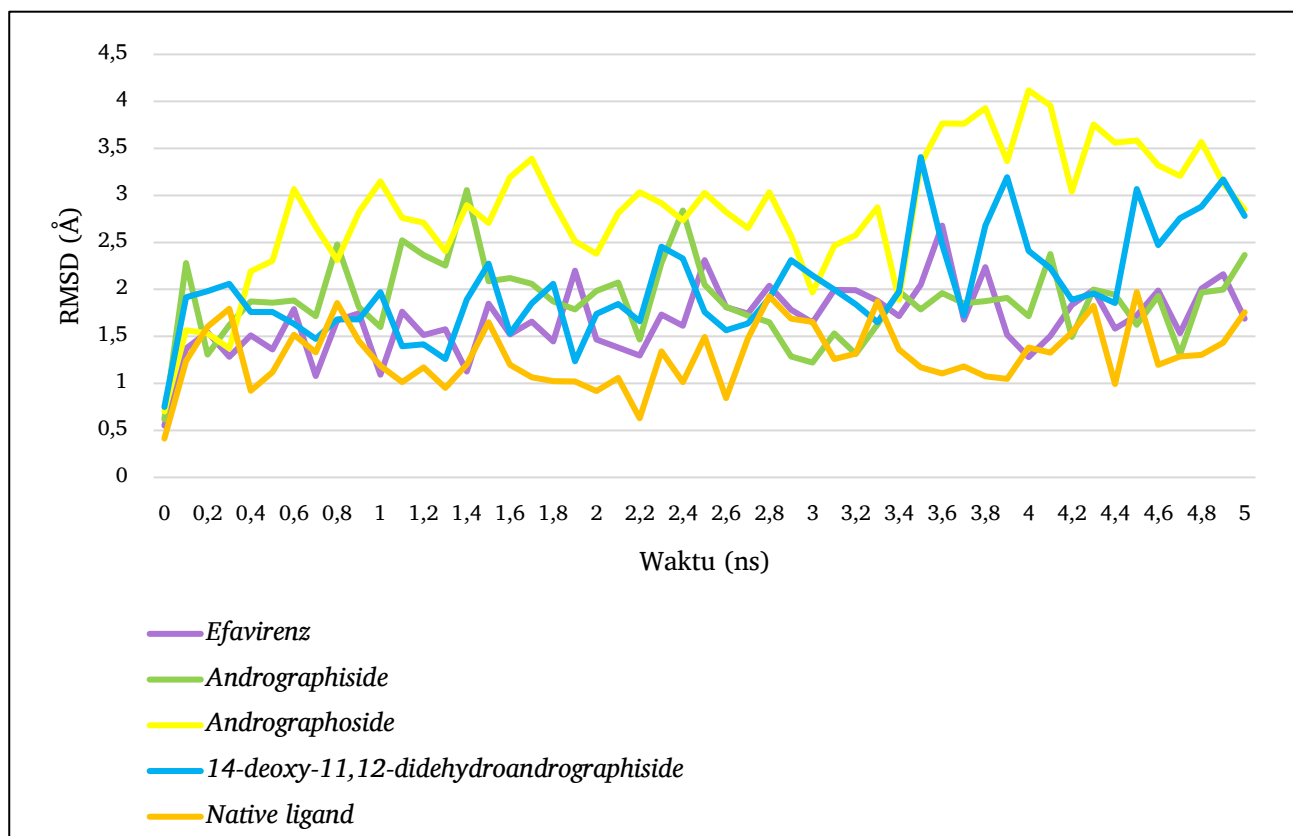
Tingkat toksisitas senyawa diprediksi dengan menggunakan pkCSM-farmakokinetik untuk memprediksi hepatotoksitas dan toksisitas akut tikus oral nilai LD50 (Tabel 6). Nilai LD50 menggambarkan banyaknya senyawa yang diberikan dan dapat mengakibatkan kematian sebesar 50% kelompok hewan coba (Hardjono, 2015). Perkiraan nilai LD50 senyawa uji berkisar antara 2.162 hingga 2.651 mol/kg. Adapun dari tiga senyawa, yaitu *andrographoside*, *andrographiside* dan *14-deoxy-11,12-didehydroandrographiside* yang akan dilakukan *molecular dynamic* bersifat tidak toksik.

Hepatotoksik adalah suatu keadaan dimana senyawa dapat menginduksi kerusakan fungsi hati. Adapun dari tiga senyawa, yaitu *andrographoside*, *andrographiside* dan *14-deoxy-11,12-didehydroandrographiside* yang akan dilakukan *molecular dynamic* tidak bersifat hepatotoksik. Beberapa senyawa bersifat hepatotoksik, hal ini

dapat diatasi dengan memodifikasi struktur senyawa tersebut. Modifikasi struktur senyawa dapat dilakukan dengan mengganti gugus-gugus tertentu yang bersifat toksik terhadap tubuh.

4. Molecular Dynamic

Simulasi *molecular dynamics* dilakukan menggunakan program YASARA *dynamics*. *Molecular dynamics* merupakan salah satu simulasi metode komputer yang mengamati pergerakan makromolekul yang saling berinteraksi dengan menyimulasikan molekul yang bergerak secara dinamis. Simulasi *molecular dynamic* bertujuan untuk mengetahui stabilitas interaksi ligan uji dengan protein target dengan rentang waktu yang ditentukan dan kondisi yang mirip dengan fisiologis tubuh manusia.



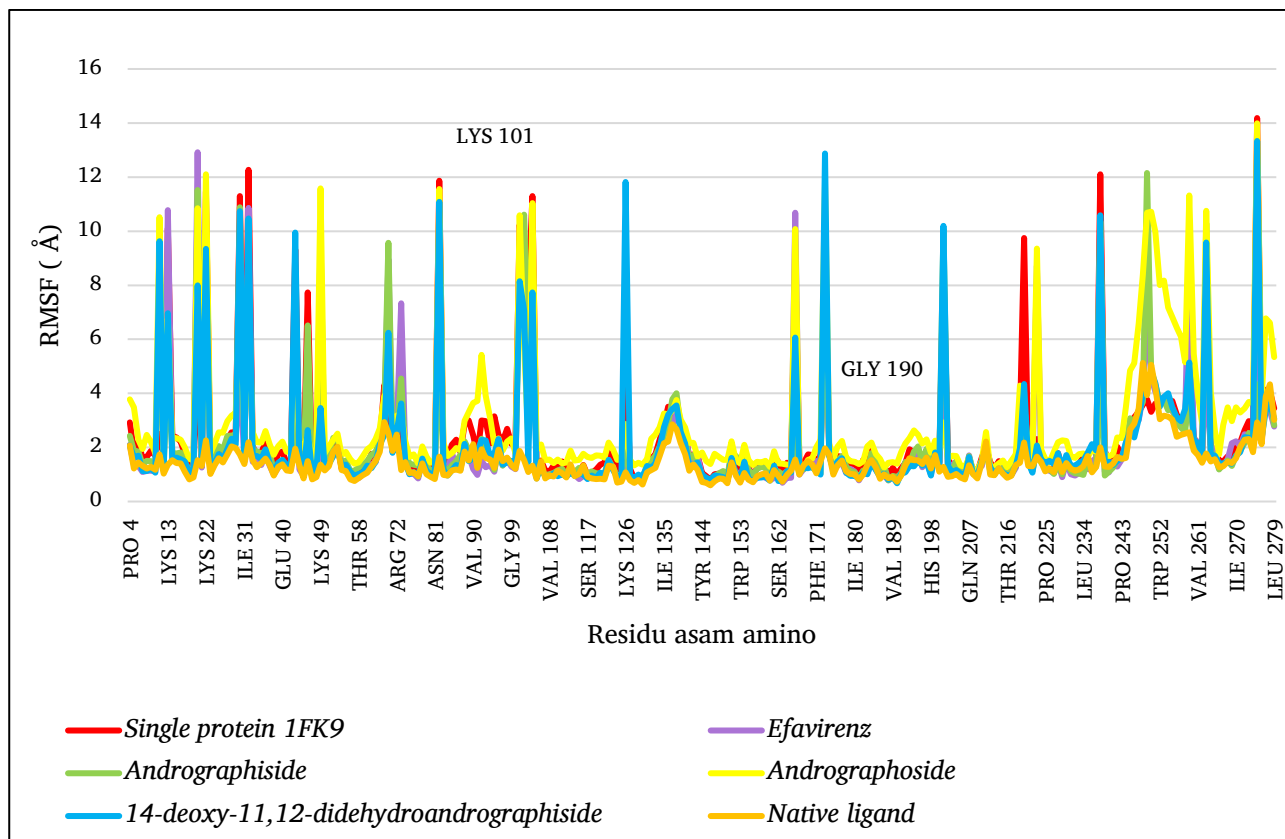
Gambar 2. Pergerakan nilai RMSD kompleks 1FK9-Ligan

Nilai RMSD ligan pembanding (*efavirenz*) pada kompleks protein 1FK9 merupakan yang paling stabil dengan rerata nilai RMSD ligan 1.67676 Å dan tidak pernah melewati nilai *threshold* (Gambar 2). Kompleks ligan *andrographiside* dan kompleks ligan *14-deoxy-11,12-didehydroandrographiside* dikatakan stabil meski di beberapa waktu melewati nilai

threshold, tetapi kembali lagi nilainya di bawah nilai *threshold*. Kompleks ligan *andrographoside* dinilai tidak stabil karena nilai RMSD ligan *movenya* melebihi nilai *threshold* dan cenderung meningkat. Hal ini menunjukkan bahwa ligan tersebut mengalami pelepasan ikatan dengan protein (dalam penelitian ini berarti ikatan dengan enzim HIV-1

reverse transcriptase) selama simulasi berlangsung. Kompleks ligan *andrographiside* menjadi yang paling stabil dengan rerata nilai RMSD 1.89 Å, lalu diikuti oleh kompleks ligan *14-deoxy-11,12-*

didehydroandrographiside. Nilai RMSD yang kecil menandakan tidak terjadinya perubahan konformasi yang cukup besar selama simulasi berlangsung.



Gambar 3. Pergerakan nilai RMSF kompleks 1FK9-ligand

Nilai RMSF dianalisis untuk melihat fluktuasi interaksi antara ligan dengan asam amino protein target pada enzim selama simulasi *molecular dynamic*. Nilai RMSF memperlihatkan fleksibilitas interaksi antara ligan dengan residu asam amino protein. Nilai maksimum residu asam amino adalah 2.5 Å. Nilai RMSF < 2.5 Å menunjukkan fleksibilitas yang rendah (Biswas et al., 2021). Pada Gambar 3 memperlihatkan bahwa adanya fluktuasi interaksi antara ligan dengan residu asam amino dalam enzim. Residu asam amino penting dalam proses perlekatan dengan ligan uji yang berinteraksi pada saat *molecular dynamic* adalah LYS 101 dan GLY 190. LYS 101 memiliki nilai RMSF diatas 10 Å yang mana nilai tersebut tidak jauh berbeda antara protein kosong, protein dengan *native ligand* maupun senyawa uji hal ini menandakan bahwa memang protein tersebut menunjukkan nilai RMSF yang besar dengan atau tanpa ligan. Nilai RMSF tinggi menunjukkan fleksibilitas yang tinggi dan cenderung tidak stabil atau bisa dikatakan posisi residu asam amino tersebut banyak mengalami perubahan selama

simulasi *molecular dynamic* berlangsung. Jika dibandingkan dengan nilai *efavirenz*, maka yang paling stabil, yaitu senyawa *14-deoxy-11,12-didehydroandrographoside*, diikuti *andrographiside* lalu *andrographiside*. Hasil penelitian lain menunjukkan *14-deoxy-11,12-didehydroandrographoside* memberikan efek antivirusnya dengan menghambat induksi H5N1 apoptosis pada jalur intrinsik/mitokondria yang bergantung pada caspase-9 (Cai et al., 2020).

KESIMPULAN

Berdasarkan analisis komputasi, senyawa *14-deoxy-11,12-didehydroandrographiside* dan *andrographiside* berpotensi sebagai HIV-1 reverse transcriptase enzyme inhibitor. Senyawa *14-deoxy-11,12-didehydroandrographiside* dan *andrographiside* memiliki kelarutan dalam air yang baik, volume distribusi yang moderate, dimetabolisme di enzim P450 dan cepat di ekresikan ke luar tubuh serta tidak menyebabkan hepatotoksik. Penggunaan komputasi

adalah teknik yang luar biasa dalam proses pencarian senyawa terapi yang efektif, namun ada beberapa keterbatasan pada saat yang sama dan terdapat tantangan untuk mengimplementasikan studi-studi ini sedemikian rupa untuk mensimulasikan perilaku organisme hidup. Oleh karena itu, kami mengusulkan kedua senyawa tersebut untuk dieksplorasi lebih jauh sebagai HIV-1 reverse transcriptase enzyme inhibitor dengan menggabungkan hasil komputasi dengan eksperimen dan penyelidikan klinis untuk memperkaya tingkat keberhasilan penemuan obat.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, S. S., Putra, P. P., Antasionasti, I., Rundengan, G., Suoth, E. J., Abdullah, R. P. I., & Abdullah, F. (2021). Analisis sifat fisikakimia, farmakokinetik dan toksikologi pada pericarpium pala (*Myristica fragrans*) secara artificial intelligence. *Chem. Prog*, 14(2), 81–92. <https://doi.org/10.35799/cp.14.2.2021.37112>
- Agamah, F. E., Mazandu, G. K., Hassan, R., Bope, C. D., Thomford, N. E., Ghansah, A., & Chimusa, E. R. (2020). Computational/in silico methods in drug target and lead prediction. *Briefings in Bioinformatics*, 21(5), 1663–1675. <https://doi.org/10.1093/bib/bbz103>
- Biswas, P., Dey, D., Rahman, A., Islam, M. A., Susmi, T. F., Kaium, M. A., Hasan, M. N., Rahman, M. H., Mahmud, S., Saleh, M. A., Paul, P., Rahman, M. R., Al Saber, M., Song, H., Rahman, M. A., & Kim, B. (2021). Analysis of SYK gene as a prognostic biomarker and suggested potential bioactive phytochemicals as an alternative therapeutic option for colorectal cancer: An in-silico pharmacoinformatics investigation. *Journal of Personalized Medicine*, 11(9). <https://doi.org/10.3390/jpm11090888>
- Bitencourt-Ferreira, G., & de Azevedo, W. F. (2019). Molegro Virtual Docker for Docking. In W. F. de Azevedo Jr (Ed.), *Methods Mol Biol* (Vol. 2053). Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9752-7_12
- Cai, W., Wen, H., Zhou, Q., Wu, L., Chen, Y., Zhou, H., & Jin, M. (2020). 14-Deoxy-11,12-didehydroandrographolide inhibits apoptosis in influenza A(H5N1) virus-infected human lung epithelial cells via the caspase-9-dependent intrinsic apoptotic pathway which contributes to its antiviral activity. *Antiviral Research*, 181(July), 104885. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2020.104885>
- Chen, Y. C. (2015). Beware of docking! *Trends in Pharmacological Sciences*, 36(2), 78–95. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2014.12.001>
- Echeverría, J., Opazo, J., Mendoza, L., Urzúa, A., & Wilkens, M. (2017). Structure-activity and lipophilicity relationships of selected antibacterial natural flavones and flavanones of Chilean flora. *Molecules*, 22(4). <https://doi.org/10.3390/molecules22040608>
- Hardjono, S. (2015). Prediksi Sifat Farmakokinetik, Toksisitas dan Aktivitas Sitotoksik Turunan N-Benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea sebagai Calon Obat Antikanker melalui Pemodelan Molekul (Prediction of Pharmacokinetic Properties, Toxicity and Derivatives as Anticancer Drugs. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 14(2), 246–255.
- Intharuksa, A., Arunotayanun, W., Yooi, W., & Sirisa-ard, P. (2022). A Comprehensive Review of *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Nees and Its Constituents as Potential Lead Compounds for COVID-19 Drug Discovery. *Molecules*, 27(14). <https://doi.org/10.3390/molecules27144479>
- Jiang, M., Sheng, F., Zhang, Z., Ma, X., Gao, T., Fu, C., & Li, P. (2021). *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees and its major constituent andrographolide as potential antiviral agents. *Journal of Ethnopharmacology*, 272(February), 113954. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.113954>
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. (2019). *Pedoman nasional pelayanan kedokteran tata laksana HIV* (pp. 1–154).
- Kufareva, I., & Abagyan, R. (2012). Methods of protein structure comparison. *Methods in Molecular Biology*, 857, 231–257. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-588-6_10
- Maeda, K., Das, D., Kobayakawa, T., Tamamura, H., & Takeuchi, H. (2019). Discovery and Development of Anti-HIV Therapeutic Agents: Progress Towards Improved HIV Medication. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 19(18), 1621–1649. <https://doi.org/10.2174/1568026619666190712204603>
- Manalu, R. T., Rachmatiah, T., & Tri Maratuzakiyah. (2022). In Silico Study of The Active Compound of The Sambiloto Plant (*Andrographis paniculata* Ness.) on HIV-1 Protease Receptors. *East Asian Journal of Multidisciplinary Research*, 1(6), 1147–1156. <https://doi.org/10.55927/eajmr.v1i6.601>
- Mehta, S., Sharma, A. K., & Singh, R. K. (2021). Pharmacological activities and molecular mechanisms of pure and crude extract of *Andrographis paniculata*: An update. *Phytomedicine Plus*, 1(4), 100085. <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2021.100085>
- Merati, T. P., Karyana, M., Tjitra, E., Kosasih, H., Aman, A. T., Alisjahbana, B., Lokida, D., Arlinda, D., Maldarelli, F., Neal, A., Arif, M., Gasem, M. H., Lukman, N., Sudarmono, P., Lau, C. Y., Hadi, U., Lisdawati, V., Wulan, W. N., Lane, H. C., & Siddiqui, S. (2021). Prevalence of HIV infection and resistance mutations in patients hospitalized for febrile illness in Indonesia. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 105(4), 960–965. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.20-1595>
- Ozvoldik, K., Stockner, T., & Krieger, E. (2023). YASARA Model-Interactive Molecular Modeling from Two Dimensions to Virtual Realities. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 63(20), 6177–6182. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.3c01136>
- Paruch, K., Biernasiuk, A., Berecka-rycerz, A., Hordyjewska, A., & Popiołek, Ł. (2021). Biological activity, lipophilicity and cytotoxicity of novel 3-acetyl-2,5-disubstituted-1,3,4-oxadiazolines. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(24), 1–16. <https://doi.org/10.3390/ijms222413669>
- Prasetyo, A., Kumala, S., Mumpuni, E., & Tjandrawinata, R. R. (2022). Validation of structural-based virtual screening protocols with the PDB Code 3G0B and prediction of the activity of *Tinospora crista* compounds as inhibitors of dipeptidyl-peptidase-IV. 8(1), 95–102. <https://doi.org/10.3897/rpharmacology.8.76237>

- Prasetyo, A., Kumala, S., Mumpuni, E., Tjandrawinata, R. R., & Sulastri, L. (2023). Uji Aktivitas Penghambatan Dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) Senyawa dari Lima Tanaman Indonesia secara In-silico. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 10(1), 1–10. <https://doi.org/10.33096/jffi.v10i1.884>
- Prasetyo, A., Mumpuni, E., & Tjandrawinata, R. R. (2019). Docking molekular dari trigonella foenum-graceum sebagai antidiabetes menggunakan molegro virtual docking. *Jurnal Jamu Indonesia*, 4(2), 74–80.
- Putra, O. N. (2021). Survei cross sectional efek samping obat antiretroviral (ARV) pada pasien HIV rawat jalan dengan algoritma Naranjo. *Jurnal Ilmiah Farmasi (Scientific Journal of Pharmacy)*, 17(1), 34–45. <https://doi.org/https://doi.org/10.20885/jif.vol17.iss1.ar t4>
- Rani, P., Chakraborty, M. K., Sah, R. P. R. P. R. P., Subhashi, A., Disna, R., UIP, P., Chaudhary, D. P., Kumar, A. A. A. A. A., Kumar, R. R., Singode, A., Mukri, G., Sah, R. P. R. P. R. P., Tiwana, U. S., Kumar, B., Madhav, P., Manigopa, C., Z, A. H., Anita, P., Rameshwar, P. S., ... Kumar, A. A. A. A. A. (2020). Molecular docking and molecular dynamic simulation approaches for drug development and repurposing of drugs for severe acute respiratory syndrome-Coronavirus-2. In *Range Management and Agroforestry* (Vol. 4, Issue 1). <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2017.06.020>
- Siswanto, I., Pranowo, H. D., & Mudasir. (2019). Docking of new designed compounds derived from 1,6-dihydro-1,3,5-triazine-2,4-diamine toward quadruple mutant plasmodium dihydrofolate reductase. *Indonesian Journal of Chemistry*, 19(3), 777–785. <https://doi.org/10.22146/ijc.39943>
- Sulistiyowaty, M. I., Putra, G. S., Budiati, T., Indrianingsih, A. W., Anwari, F., Kesuma, D., Matsunami, K., & Yamauchi, T. (2023). Synthesis, In Silico Study, Antibacterial and Antifungal Activities of N-phenylbenzamides. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3). <https://doi.org/10.3390/ijms24032745>
- Thomsen, R., & Christensen, M. H. (2006). MolDock: A New Technique for High-Accuracy Molecular Docking. *J. Med. Chem*, 43, 3315–3321. <https://doi.org/10.1016/j.physletb.2008.03.048>

Citation Format: Prasetyo, A., Martati, T., & Saputra, P. W. (2024). In Silico Study of Bioactive Compounds in Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* Burm. F. Nees) as HIV-1 Reverse Transcriptase Inhibitor. *Jurnal Jamu Indonesia*, 9(2), 95–105. <https://doi.org/10.29244/jji.v9i2.300>