



**Y A Y A S A N P E R G U R U A N C I K I N I
I N S T I T U T S A I N S D A N T E K N O L O G I N A S I O N A L**

Jl. Moh. Kahfi II, Bhumi Srengseng Indah, Jagakarsa, Jakarta Selatan 12640 Telp. (021) 727 0090, 787 4645,
787 4647 Fax. (021) 786 6955, <http://WWW.istn.ac.id> E-mail: rektorat@istn.ac.id

**SURAT PENETAPAN DOSEN PEMBIMBING DAN
PENETAPAN JUDUL TUGAS AKHIR**

Nomor : 01 /03.1-Hsf/I/2022

Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi – Institut Sains dan Teknologi Nasional, menunjuk dan menetapkan yang namanya tercantum dibawah ini sebagai Dosen Pembimbing Tugas Akhir :

Pembimbing I-ISTN :

Nama : Dr. apt. Subaryanti, M.Si..
Jabatan / Pangkat : Lektor
NIDN : 0321016802

Pembimbing II-ISTN :

Nama : Desy Muliana Wenas. S.Si.,MSi.
Jabatan / Pangkat : AA
NIDN : 0328128303

Mahasiswa yang dibimbing adalah :

Nama : Desy Nelsari.
Nomor Pokok : 16334046
Jurusan / Bidang : Farmasi / Industri

Dengan topik / judul skripsi yang disetujui adalah :

Study In silico Daun Dewandaru (Eugenia Uniflora L.) sebagai Anti Tirosinase.

Jakarta, 03 Januari 2022

Kepala Program Studi Farmasi FF-ISTN



apt. Yayah Siti Djuhariah, M.Si.

Tembusan :

1. Dekan Fakultas Farmasi ISTN
2. Arsip



**STUDI IN SILICO DAUN DEWANDARU (*Eugenia uniflora* L.)
SEBAGAI ANTI-TIROSINASE**

**NAMA : DESY NELSARI
NIM : 16334046**

**PROGRAM STUDI FARMASI FAKULTAS FARMASI
INSTITUT SAINS DAN TEKNOLOGI NASIONAL
JAKARTA
JANUARI 2023**



**STUDI IN SILICO DAUN DEWANDARU (*Eugenia uniflora* L.)
SEBAGAI ANTI-TIROSINASE**

Diajukan sebagai salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Farmasi

NAMA : DESY NELSARI

NIM : 16334046

**PROGRAM STUDI FARMASI FAKULTAS FARMASI
INSTITUT SAINS DAN TEKNOLOGI NASIONAL
JAKARTA**

JANUARI 2023

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar

Nama : Desy Nelsari
NPM : 16334046
Tahun : Agustus 2023

MATERAI

(Desy Nelsari)

HALAMAN PERNYATAAN NON PLAGIAT

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Desy Nelsari
NPM : 16334046
Mahasiswa : Program Studi Farmasi
Tahun Akademik ; 2022/2023

Menyatakan bahwa saya tidak melakukan kegiatan plagiat dalam penulisan Tugas Akhir yang berjudul “Studi In Silico Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) sebagai Anti-Tirosinase” Apabila suatu saat nanti saya terbukti melakukan plagiat, maka saya akan menerima sanksi yang telah ditetapkan.

Demikian Surat Pernyataan ini saya buat dengan sebenar–benarnya.

Jakarta, Agustus 2023

(Desy Nelsari)

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh

Nama : Desy Nelsari
NPM : 16334046
Program Studi : Farmasi
Judul : Studi In Silico Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora*
L.) Sebagai Anti-Tirosinase

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional.

DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Dr. apt. Subaryanti, M.Si

Pembimbing : Desy Muliana Wenas.S.Si.,MSi

Penguji : Apt. Erwi Putri Setyaningsih, M.Si ()

Penguji : Ika Maruya Kusuma, M.Si ()

Penguji : Saiful Bahri, M.Si ()

Ditetapkan di : Jakarta

Tanggal : Agustus 2023

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur hanya bagi Tuhan Yesus Kristus, oleh karena anugerah-Nya yang melimpah, kemurahan dan kasih setia yang besar akhirnya penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul “**STUDI IN SILICO DAUN DEWANDARU (*EUGENIA UNIFLORA L.*) SEBAGAI ANTI TIROSINASE**”.

Adapun skripsi ini disusun sebagai syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Insitut Sains dan Teknologi Nasional, Jakarta.

Pada kesempatan kali ini saya ucapkan rasa terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Ibu Dr. apt. Subaryanti, M.Si. selaku Dosen Pembimbing I dan Ibu Desy Muliana Wenas.S.Si.,Msi yang dengan tulus dan penuh kesabaran meluangkan waktunya untuk memberikan ilmu, saran, dan dukungan serta semangat untuk membimbing dan mengarahkan sejak pembuatan proposal hingga penyusunan skripsi ini.

Selanjutnya, ucapan terima kasih saya sampaikan juga kepada :

1. Ibu apt Dr.Refdanita, M.Si., selaku Dekan Fakultas Farmasi Institut Sains dan Teknologi Nasional.
2. Ibu Dr. apt. Subaryanti, M.Si. selaku Kepala Program Studi Fakultas Farmasi Institut Sains dan Teknologi Nasional.
3. Seluruh dosen pengajar yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat selama perkuliahan di Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional.
4. Bapak Rosario Trijualiamos Manalu, M.Si selaku dosen yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat selama pengerjaan skripsi ini.
5. Bapak Arif Setyawansyah selaku dosen molekular doking yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat selama penelitian skripsi ini..
6. Keluarga yang penulis kasihi Bapak Hasudungan Napitupulu, Ibu Mutiara Pangaribuan yang tak henti-hentinya memberikan dukungan dan selalu menjadi motivasi penulis dari segi moral maupun materi. Begitupun ke dua Adik saya Deby Damayanti Napitupulu dan Daniel Parulian Napitupulu yang juga selalu memberikan

doa, dukungan, semangat, kasih sayang dan selalu menjadi motivasi terbesar bagi penulis dalam menyelesaikan pendidikan di Institut Sains dan Teknologi Nasional.

7. Sahabat-sahabat terbaik saya Dame, Mentari, Danu, Handila, Ruth, Iis, Dita yang telah memberikan semangat, do'a dan dukungan selama pengerjaan skripsi ini.
8. Teman-teman P2K Farmasi ISTN 2016, yang telah banyak membantu, berbagi pengalaman, dan memberi dukungan peneliti dalam dilaksanakannya studi ini.
9. Teman-teman kerjaan di Rs Mitra Keluarga Kelapa Gading yang telah memberikan support dan effort secara moril dan material.
10. Semua pihak yang telah membantu selama pembuatan proposal hingga penyusunan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu

Semoga Tuhan Yang Maha Esa memberikan balasan yang lebih atas semua bantuan dan dukungan yang telah diberikan. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan baik dari segi penyusunan bahasa, tanda baca, maupun isi. Maka dari itu, dengan lapang dada penulis membuka seluas-luasnya pintu bagi para pembaca yang ingin memberikan kritik ataupun saran demi penyempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan menambah wawasan bagi para pembaca.

Jakarta, Agustus 2023

Penulis

Desy Nelsari

**HALAMAN PENYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR
UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademika Institut Sains dan Teknologi Nasional, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Desy Nelsari
NPM : 16334046
Program Studi : S1 Farmasi
Fakultas : Farmasi
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Institut Sains dan Teknologi Nasional Hak Bebas Royalti Noneksklusif (Non – Exclusive Royalty – Free Right) atas karya ilmiah saya yang berjudul : Studi In Silico Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora L.*) Sebagai Anti-Tirosinase.

Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Institut Sains dan Teknologi Nasional berhak menyimpan, mengalih media/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (data base) soft copy dan hard copy, merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap menyantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta. Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Jakarta
Pada Tanggal : Agustus 2023
Yang menyatakan,

Desy Nelsari

ABSTRAK

Nama : Desy Nelsari
Program Studi : Farmasi
Judul : Studi *In Silico* Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora L.*) Sebagai Anti-tirosinase

Indonesia sebagai negara yang berada di sekitar garis ekuator memiliki iklim tropis yang dikarakterisasi dengan suhu tinggi dan radiasi sinar ultraviolet (UV) pada level tertinggi. Hiperpigmentasi merupakan suatu kondisi masalah kulit yang diakibatkan oleh peningkatan proses melanogenesis sehingga menyebabkan penggelapan warna kulit. Salah satu cara menangani hiperpigmentasi adalah melalui inhibisi enzim kunci sintesis melanin yaitu tyrosinase. *Eugenia uniflora L.* merupakan tanaman yang memiliki senyawa metabolit kompleks yang memiliki potensi sebagai inhibitor tyrosinase. Sebelum dilakukan penambatan molekul dilakukan prediksi sifat fisikokimia yang mengacu pada parameter Lipinski's Rule of Five. Model protein yang digunakan yaitu 5M8O. Preparasi reseptor dan ligan menggunakan aplikasi BIOVIA Discovery Studio. Reseptor 5M8O dinyatakan valid karena memiliki nilai RMSD $< 2\text{\AA}$. Penambatan molekul dilakukan menggunakan aplikasi AutoDockTools dan notepad ++. Hasil menunjukkan senyawa *Actinidiionosid*, *β -sitosterol*, *Seskuiterpen* dan *α -cadinol* memiliki nilai energy binding dan konstanta inhibisi yang rendah dibandingkan dengan ligan nativ dan senyawa pembanding maka *Eugenia uniflora L.* diprediksi berpotensi untuk menghambat enzim tyrosinase. Prediksi ADMET juga dilakukan menggunakan website pkCSM.

Kata Kunci: Tirosinase, *In Silico* , Molecular Docking, Daun Dewandaru

ABSTRACT

Nama : Desy Nelsari
Program Studi : Farmasi
Judul : In Silico Study of Dewandaru Leaves (*Eugenia uniflora* L.) As Anti-tyrosinase

Indonesia as a country located around the equator has a tropical climate which is characterized by high temperatures and ultraviolet radiation (UV) at the highest level. Hyperpigmentation is a condition of skin problems caused by an increase in the process of melanogenesis, causing darkening of skin color. One way to treat hyperpigmentation is through inhibition of the key melanin synthesis enzyme, tyrosinase. *Eugenia uniflora* L. is a plant that has complex metabolite compounds that have the potential to act as tyrosinase inhibitors. Prior to molecular docking, the physicochemical properties were predicted according to Lipinski's Rule of Five parameters. The protein model used is 5M8O. Receptor and ligand preparation using the BIOVIA Discovery Studio application. The 5M8O receptor is declared valid because it has an RMSD value of $<2\text{\AA}$. Molecular docking is done using the AutoDockTools and notepad++ applications. The results suggest that the compounds Actinidiionoside, β -sitosterol, sesquiterpenes and α -cadinol have low energy binding values and inhibition constants compared to native ligands and comparison compounds, so *Eugenia uniflora* L. is predicted to have the potential to inhibit the tyrosinase enzyme. ADMET predictions are also carried out using the pkCSM website.

Keywords: Tyrosinase, In Silico, Molecular Docking, Dewandaru Leaf

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
HALAMAN PERNYATAAN NON PLAGIAT	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
KATA PENGANTAR	v
HALAMAN PENYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah	4
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.4. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Tanaman Dewandaru (<i>Eugenia uniflora</i> L.).....	5
2.1.1. Kandungan Senyawa Kimia Tanaman Dewandaru ..	6
2.2. Anatomi fisiologi kulit	8
2.2.1. Struktur kulit.....	8
2.2.2. Warna Kulit	10
2.2.3. Eritema dan Pigmentasi.....	11
2.3. Melanin	13
2.4. Melanogenesis.....	13
2.5. Enzim	14
2.6. Enzim Tyrosinase.....	16
2.7. Asam kojat	18
2.8. Studi In-Silico	18
2.9. Bank Data Protein (Protein Data Bank).....	19
2.10. PubChem.....	20
2.11. Lipinski's Rule Of Five.....	20
2.12. PkCSM®	21
2.13. Aplikasi	27
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	28
3.1. Tempat dan Waktu Penelitian	28
3.2. Alat.....	28
3.2.1. Perangkat Keras.....	28

3.2.2.	Perangkat Lunak.....	28
3.3.	Bahan	28
3.3.1.	Struktur Ligan.....	29
3.4.	Prosedur Kerja.....	34
3.4.1.	Preparasi dan analisis ligan	34
3.4.2.	Preparasi protein.....	34
3.4.3.	Penambatan molekuler	34
3.4.4.	Validasi metode penambatan molekuler.....	35
3.4.5.	Visualisasi hasil docking	35
3.4.6.	Prediksi Sifat Farmakokinetik dan Toksisitas	35
3.4.7.	Analisa data	35
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	36
4.1.	Analisis ligan.....	36
4.2.	Validasi Molecular Docking	39
4.3.	Energi ikatan Bebas (ΔG) dan Konstanta Inhibisi (KI)	40
4.4.	Visualisasi Hasil Molecular Docking	42
4.5.	Prediksi ADMET	46
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	52
5.1.	Kesimpulan	52
5.2.	Saran.....	52
	DAFTAR PUSTAKA.....	53
	LAMPIRAN	61

DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Senyawa uji Daun Dewandaru	30
Tabel 3.2 Data Senyawa Ligan Pembanding (Asam Kojat).....	33
Tabel 4.1 Hasil Prediksi Sifat Mirip Obat Senyawa daun dewandaru	36
Tabel 4.2 Nilai Energi Ikatan Bebas Dan Konstanta Inhibisi	41
Tabel 4.3 Hasil Virtual Skrining Senyawa Uji	45
Tabel 4.4 Hasil Uji ADMET menggunakan pkCSM.....	46

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Habitus (A) daun (B) dan buah (C) <i>E.uniflora</i> L.....	6
Gambar 2.2	Anatomi Kulit	9
Gambar 2.3	Tipe-Tipe Kulit	12
Gambar 2.4	Mekanisme Kerja Enzim	15
Gambar 2.5	Reaksi Oksidasi dengan Katalis Enzim Tirosinase	17
Gambar 3.1	Struktur protein 5M8O	29
Gambar 3.2	Struktur Native Ligand	29
Gambar 4.1	Hasil visualisasi overlapping native ligand 5M8O berasal dari co- kristal (pink) dan re- docking (hijau muda)	39
Gambar 4.2	Visualisasi Interaksi antara Reseptor dengan ligand (a) Ligan nativ (b) Senyawa pembanding (c) Actinidioionosid (d) β -sitosterol (e) Seskuiterpen (f) α -cadinol	44

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Alur Penelitian	61
Lampiran 2 Preparasi dan Skrining Ligand	62
Lampiran 3 Preparasi Protein 5M8O	64
Lampiran 4 Preparasi Ligan	66
Lampiran 5 Validasi molekular docking	67
Lampiran 6 Analisis Interaksi Senyawa	68
Lampiran 7 Uji Prediksi ADMET	69

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Indonesia sebagai negara yang berada di sekitar garis ekuator memiliki iklim tropis yang dikarakterisasi dengan suhu tinggi dan radiasi sinar ultraviolet (UV) pada level tertinggi (Ezzedine et al., 2007). Kulit merupakan pelindung utama dari radiasi sinar ultraviolet (Masaki, 2010). Kulit terbakar sinar matahari dan kulit kecoklatan merupakan efek cepat yang biasa terjadi akibat dari paparan radiasi sinar UV yang berlebihan (Adshani et al., 2022). Paparan sinar UV dalam waktu yang lama dengan frekuensi yang sering dapat menyebabkan masalah kulit seperti hiperpigmentasi. Hiperpigmentasi merupakan suatu kondisi masalah kulit yang diakibatkan oleh peningkatan proses melanogenesis sehingga menyebabkan penggelapan warna kulit (Mustika et al., 2020). Peningkatan sintesis melanin secara lokal atau tidak merata dapat menyebabkan pigmentasi lokal atau noda hitam pada bagian tertentu dari kulit wajah (Adnyani et al., 2019).

Salah satu cara untuk mencegah atau menghambat pembentukan melanin adalah dengan melakukan penghambatan aktivitas tirosinase. Tirosinase merupakan suatu enzim yang berperan dalam pembentukan pigmen kulit atau dikenal dengan proses melanogenesis. Tirosinase merupakan enzim yang berperan sebagai katalis pada dua reaksi yang berbeda yaitu proses hidroksilasi tirosin menjadi dihidroksi-fenilalanin (L-DOPA) dan oksidasi L-DOPA menjadi DOPA kuinon (Sagala & Kurnia, 2020).

Proses biosintesis melanin di dalam melanosom membutuhkan enzim melanogenesis salah satunya tirosinase-related protein 1 (TRP 1). Fungsi spesifik dari enzim TRP 1 pada jalur melanogenesis adalah sebagai DHICA oksidase (Adnyani et al., 2019). Hambatan pembentukan melanin merupakan salah satu cara yang dapat dilakukan untuk mencerahkan kulit (Nugraha et al., 2018). Pembentukan melanin dapat dihambat dengan cara menghambat aktivitas enzim tirosinase-related protein 1 (Adnyani et al., 2019).

Salah satu tindakan yang dapat dilakukan untuk penanggulangan hiperpigmentasi pada kulit yaitu dengan menggunakan produk pencerah kulit. Zat yang

umum digunakan sebagai pencerah kulit seperti hidrokuinon, merkuri dan asam kojat, namun beberapa senyawa tersebut memiliki efek samping berbahaya terkait karsinogenesis dan mutagenesis (Adnyani et al., 2019). Oleh karena itu, perlu dilakukan usaha untuk menemukan senyawa baru yang dapat digunakan sebagai bahan pencerah kulit yang amandalam penggunaannya seperti pengembangan pencerah kulit dari alam (Adnyani et al., 2019).

Daun Dewandaru banyak mengandung minyak, 32 diidentifikasi, yang merupakan 92,65% dari total komposisi minyak. Komponen yang paling melimpah adalah seskiterpen (91,92%), dengan kurzerene (47,3%), γ -elemene (14,25%), dan trans- β -elemenone (10,4%) menjadi konstituen utama (Antonio, et al., 2010). γ -elemene (14,25%), dan trans- β -elemenone (10,4%) menjadi konstituen utama (Antonio, et al., 2010). Kombinasi pelarut etanol-air dalam ekstraksi daun Dewandaru diperoleh banyak kandungan senyawa fenol (Garmuas, et al., 2013). Daun Dewandaru banyak mengandung minyak menguap seperti seskiterpen 91,92%, curzerene 47,30%, γ clemene 14,25%, trans- β elemenone 10,40% (Klinger, et al.,2013), selain itu daun Dewandaru juga banyak mengandung minyak atsiri furanoelemen 50,20%, β elemen 5,90% dan α -cadinol 4,70% (Rosenia, et al., 2007). Senyawa tanin yang diisolasi dari fraksi aktif *Eugenia uniflora* antara lain gallokatekin, oenothetin B, eugeniflorin D1 dan D2 dan flavonol mirisitrin Daun tanaman dewandaru kaya akan kandungan polifenol seperti flavonoid, saponin dan tanin. Flavonoid dari daun berupa mirisetin, mirisitrin, galokatekin, kuersetin dan kuersitrin (Santos et al.,2016). Kombinasi pelarut etanol-air dalam ekstraksi daun Dewandaru diperoleh banyak kandungan senyawa fenol (Garmuas et al., 2013). Daun Dewandaru banyak mengandung minyak menguap seperti seskiterpen 91,92%, curzerene 47,30%, γ clemene 14,25%, trans- β elemenone 10,40% (Klinger, et al.,2013), selain itu daun Dewandaru juga banyak mengandung minyak atsiri furanoelemen 50,20%, β elemen 5,90% dan α -cadinol 4,70% (Rosenia, et al., 2007). Senyawa tanin yang diisolasi dari fraksi aktif *Eugenia uniflora* antara lain gallokatekin, oenothetin B, eugeniflorin D1 dan D2 dan flavonol mirisitrin Daun tanaman dewandaru kaya akan kandungan polifenol seperti flavonoid, saponin dan tanin. Flavonoid dari daun berupa mirisetin, mirisitrin, galokatekin, kuersetin dan kuersitrin (Rai, 2016).

Kandungan kimia aktif daun Dewandaru mendapatkan hasil bahwa daun *Eugenia uniflora* L. memiliki potensi yang besar sebagai sumber obat yang sangat berguna yang disebabkan oleh adanya berbagai macam metabolit primer dan sekunder. Sebuah penelitian *in vitro* menunjukkan bahwa senyawa flavonoid, tannin, saponin, steroid, triterpenoid memiliki aktivitas inhibitor tyrosinase dengan IC₅₀ yaitu 23.00 ppm (Prasetyo, 2021). Senyawa – senyawa tersebut terkandung dalam daun dewandaru, untuk memastikan potensi anti-tirosinase pada daun dewandaru, perlu melakukan uji *in vivo*. Namun, uji *in vivo* memiliki kelemahan yaitu mahal dan membutuhkan waktu yang lama, oleh sebab itu, digunakan uji *in silico* karena lebih simple, waktu relatif singkat dan terjangkau. Kegunaan *in silico* adalah memprediksi, memberi hipotesis, memberi penemuan baru atau kemajuan dalam pengobatan dan terapi (Bare et al., 2019). Pengujian dilakukan untuk mengetahui afinitas dan mekanisme molekuler senyawa-senyawa terkait dengan aktivitasnya sebagai anti-tirosinase menggunakan teknik kimia komputasi yaitu molecular docking. Pada penelitian ini, akan digunakan aplikasi Autodock, Discovery Studio Visualizer, Notepad++ serta situs pendukung seperti PubChem, RCSB PDB, pkCSM.

Selain itu dapat dilakukan juga identifikasi sifat mirip obat secara *in silico* dengan mengikuti aturan Lipinski's rule of five, yang mana aturan tersebut membantu untuk menunjukkan tingkat absorpsi senyawa yang diuji terhadap lipid bilayer yang terdapat di dalam tubuh manusia (Rachmania et al., 2015).

Dilakukan juga prediksi bioaktivitas terhadap senyawa yang diuji, untuk memastikan potensi aktivitas dari senyawa tersebut, dan juga diperlukan prediksi sifat farmakokinetik dan toksisitas, untuk mengetahui nilai absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi dan toksisitas dari senyawa yang diuji (Nadhiefa et al., 2022).

Berdasarkan uraian diatas maka peneliti tertarik untuk melakukan uji secara *in silico* terhadap senyawa kimia daun dewandaru (*Eugenia uniflora* L), sebagai penghambat enzim tyrosinase untuk mengetahui aktivitas senyawa-senyawa tersebut sebagai kandidat anti tyrosinase.

1.2. Perumusan Masalah

1. Bagaimana prediksi sifat mirip obat dari senyawa aktif daun Dewandaru secara *insilico*?
2. Bagaimana cara penerapan studi *in silico* dalam memprediksi efek anti-tirosinase pada senyawa aktif yang terkandung dalam daun Dewandaru?
3. Bagaimana prediksi sifat farmakokinetik dan toksisitas dari senyawa aktif daun Dewandaru?

1.3. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui sifat mirip obat dari senyawa aktif daun Dewandaru.
2. Mengetahui cara penerapan studi *in silico* dalam memprediksi efek anti-tirosinase pada senyawa aktif yang terkandung dalam daun Dewandaru
3. Mengetahui sifat farmakokinetik dan toksisitas dari senyawa aktif daun Dewandaru?

1.4. Manfaat Penelitian

1. Penelitian ini diharapkan memberikan informasi mengenai sifat mirip obat dari senyawa aktif daun Dewandaru
2. Penelitian ini diharapkan memberikan informasi tentang cara penerapan studi *in silico* dalam memprediksi efek anti-tirosinase pada senyawa aktif yang terkandung dalam daun Dewandaru
3. Penelitian ini diharapkan memberikan informasi terkait sifat farmakokinetik dan toksisitas dari senyawa aktif daun Dewandaru?

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tanaman Dewandaru (*Eugenia uniflora* L.)

Tanaman *E. uniflora* tersebar luas di Negara-negara Amerika Selatan terutama Brazil, Argentina, Uruguay dan Paraguay (Consolini & Marisol, 2002). Namun saat ini sudah tersebar di seluruh kawasan tropis dan subtropis. Tumbuhan ini juga terdapat di beberapa wilayah Asia Tenggara seperti Jawa, Semenanjung Malaysia, dan Filipina. Selain itu, tumbuhan ini juga ditemukan di Pulau Karibia, India, Cina, Mesir, Nigeria, dan Australia (Renjana, 2020). *Eugenia uniflora* memiliki beragam nama lokal, diantaranya adalah ceremai belanda, dewandaru (Indonesia), ceremai belanda (Malaysia), *Brazil cherry*, *Surinam cherry*, *pitanga* (Inggris), *Cesire de cayenne*, *cerises-côtes*, *cerise carrée* (Prancis), dan *mayom - farang* (Bangkok, Thailand) (Renjana, 2020).

Tanaman dewandaru termasuk dalam suku jambu-jambuan (*Myrtaceae*) dengan nama ilmiah *Eugenia uniflora* L. Berdasarkan data *The Plant List* (2013), tumbuhan ini memiliki 46 nama sinonim. Habitus tumbuhan ini berupa semak atau pohon dengan ketinggian mencapai 7 meter. Cabang tanaman dewandaru menyebar, ramping, dan terkadang melekok. Permukaan batang halus dan kulit batang mengelupas. Daun tunggal berbentuk bulat sungsang, bagian pangkal membulat atau sedikit terbelah, ujung meruncing dan tumpul, permukaan halus, mengkilat. Warna daun cokelat kemerahan saat masih muda dan berubah menjadi hijau gelap ketika tua. Saat musim dingin atau kering, daun akan berwarna merah. Bunga wangi, terdiri atas 1-4 bunga yang menyatu di ketiak daun, berwarna putih krem, dan berdiameter sekitar 1 cm. Kelopak bunga berbentuk tabung dengan 8 rusuk dan 4 lekukan. Mahkota bunga berwarna putih dan panjang 7-11 mm. Jumlah benang sari sekitar 50-60 helai. Buah menggantung, berbentuk bulat pipih dan terdapat 7-8 rusuk seperti lampu. Buah berwarna hijau saat masih muda dan akan berubah menjadi oranye, hingga merah terang atau gelap keunguan. Kulit buah tipis, daging buah oranye hingga merah, berair dan sedikit lengket, rasa masam hingga manis. Biji berbentuk pipih dan umumnya berjumlah 1 butir dengan ukuran besar atau 2-3 butir dengan ukuran kecil (Renjana, 2020).

Eugenia uniflora L. termasuk kedalam *family* myrtaceae, berikut kedudukannya dalam ilmu taksonominya (Hieronymus, 2021)

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Bangsa	: Myrtales
Suku	: Myrtaceae
Marga	: <i>Eugenia</i>
Jenis	: <i>Eugenia uniflora</i> L



Gambar 2.1

Habitat (A) daun (B) dan buah (C) *E.uniflora* L.

Sumber : (Renjana, 2020)

2.1.1. Kandungan Senyawa Kimia Tanaman Dewandaru

Buah dewandaru selain mengandung berbagai vitamin, mineral, karbohidrat, protein dan lipid, juga mengandung metabolit sekunder yang bermanfaat bagi Kesehatan. Berbagai data buah Dewandaru menghasilkan kandungan sesuai dengan warnanya, warna oranye mengandung β -caroten dan β -crythoxantin, warna merah banyak mengandung lycopene dan warna ungu gelap banyak mengandung antosianin (Santoso, 2020).

Daun Dewandaru banyak mengandung minyak, tiga puluh dua senyawa diidentifikasi, yang merupakan 92,65% dari total komposisi minyak. Komponen yang paling melimpah adalah seskuiterpen (91,92%), dengan kurzerene (47,3%), γ -elemene

(14,25%), dan trans- β -elemenone (10,4%) menjadi konstituen utama (Antonio, et al., 2010). Kombinasi pelarut etanol-air dalam ekstraksi daun Dewandaru diperoleh banyak kandungan senyawa fenol (Garmuas., 2013). Daun Dewandaru banyak mengandung minyak menguap seperti seskquiterpen 91,92%, curzerene 47,30%, γ clemene 14,25%, trans- β elemenone 10,40% (Klinger et al., 2013), selain itu daun Dewandaru juga banyak mengandung minyak atsiri furanoelemen 50,20%, β elemen 5,90% dan α -cadinol 4,70% (Rosenia, et al., 2007).

Senyawa tanin yang diisolasi dari fraksi aktif *Eugenia uniflora* antara lain gallokatekin, oenothetin B, eugeniflorin D1 dan D2 dan flavonol mirisitrin Daun tanamandewandaru kaya akan kandungan polifenol seperti flavonoid, saponin dan tanin. Flavonoid dari daun berupa mirisetin, mirisitrin, galokatekin, kuersetin dan kuersitrin (Rai et al., 2016). Menurut penelitian oleh (Samy et al., 2014) dari ekstrak daun *Eugenia uniflora* dapat diisolasi 8 komponen yaitu 1 sterol (β -sitosterol), 2 triterpen (asam betulunik dan centelloside), 3 flavonoid (mirisetrin, mirisetin 3-O-(4''-O-galloyl)- α -L- rhamnopyranosid, dan mirisetin 3-O- β -D-glucopyranosid) dan 2 megastigman, actinidioionosid dan (6S,9R)-roseoside.

Dewandaru termasuk tumbuhan yang kaya akan manfaat, dikenal sebagai tanaman obat oleh masyarakat Brazil, daun dan buah dewandaru dimanfaatkan sebagai obat diare, demam, hipertensi, dan rematik. Daun dewandaru juga berkhasiat untuk mengobati cacingan, bronchitis dan batuk (Renjana, 2020). Hasil penelitian (Ogunwande., 2005) menjelaskan bahwa ekstrak hidroalkoholik daun dewandaru dapat mengurangi kadar enzim *xanthine-oxidase* yang memicu terbentuknya asam urat. Ekstrakminyak esensial Dewandaru memiliki kemampuan antimikroba (Rusmiati et al., 2016). Buah Dewandaru yang masih berwarna orange memiliki antioksidan tertinggi karena kaya akan karotenoid. Biji Dewandaru juga kaya akan antioksidan karena kandungan senyawa fenolik yang sangat tinggi (Renjana, 2020).

2.2. Anatomi fisiologi kulit

2.2.1. Struktur kulit

Kulit adalah selimut yang menutupi permukaan tubuh dan memiliki fungsi utama sebagai pelindung dari berbagai macam gangguan dan rangsangan luar. Luas kulit pada manusia rata-rata \pm 2 meter persegi, dengan berat 10 kg jika dengan lemaknya atau 4 kg jika tanpa lemak (Siregar, 2020). Kulit terdiri atas 2 lapisan utama yaitu epidermis dan dermis. Epidermis merupakan jaringan epitel yang berasal dari ektoderm, sedangkan dermis berupa jaringan ikat agak padat yang berasal dari mesoderm. Dibawah dermis terdapat selapis jaringan ikat longgar yaitu hipodermis, yang pada beberapa tempat terutama terdiri dari jaringan lemak.

1. Epidermis

Epidermis terdiri atas 5 lapisan sel penghasil keratin (keratinosit) yaitu :

- a. Stratum basal (stratum germinativum) terdiri atas selapis sel kuboid atau silindris basofilik yang terletak di atas lamina basalis pada perbatasan epidermis-dermis.
- b. Stratum spinosum, terdiri atas sel-sel kuboid, atau agak gepeng dengan inti ditengah dan sitoplasma dengan cabang-cabang yang terisi berkas filament.
- c. Stratum granulosum, terdiri atas 3-5 lapis sel poligonal gepeng yang sitoplasmanya berisikan granula basofilik kasar.
- d. Stratum luteum, tampak lebih jelas pada kulit tebal, lapisan ini bersifat translusens dan terdiri atas lapisan tipis sel epidermis eosinofilik yang sangat gepeng.
- e. Stratum korneum, lapisan ini terdiri atas 1-20 lapis sel gepeng berkeratin tanpa inti dengan sitoplasma yang dipenuhi skleroprotein filamentosa birefringen, yakni keratin (Kalangi, 2013)

2. Dermis

Dermis terdiri atas 2 lapisan dengan batas yang tidak nyata, stratum papillare di sebelah luar dan stratum reticular yang lebih dalam.

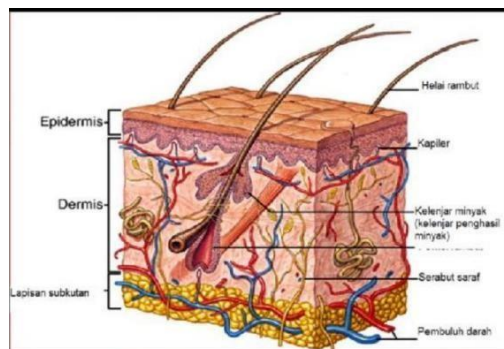
- a. Stratum papillar, terdiri atas jaringan ikat longgar, fibroblas dan sel

jaringan ikat lainnya terdapat di stratum ini seperti sel mast dan 11 makrofag. Dari lapisan ini, serabut lapisan kolagen khusus menyelip ke dalam lamina basalis dan meluas ke dalam dermis. Serabut kolagen tersebut mengikat dermis pada epidermis dan disebut penambat.

- b. Stratum retikular, terdiri atas jaringan ikat padat tak teratur (terutama kolagen tipe 1), dan oleh karena itu memiliki lebih banyak serat dan lebih sedikit sel dari pada stratum papilar (Kalangi, 2013).
- c. Dermis kaya dengan jaringan pembuluh darah dan limfa. Di daerah kulit tertentu, darah dapat langsung mengalir dari arteri ke dalam vena melalui anastomosis atau pirau arteriovenosa. Pirau sangat berperan penting pada pengaturan suhu. Selain komponen tersebut, dermis mengandung beberapa turunan epidermis, yaitu folikel rambut, kelenjar keringat dan kelenjar sebacea. (Kalangi, 2013).

3. Jaringan lemak

Lapisan ini terdiri atas jaringan ikat longgar yang mengikat kulit secara longgar pada organ-organ dibawahnya, yang memungkinkan kulit bergeser di atasnya. Hipodermis sering mengandung sel-sel lemak yang jumlahnya bervariasi sesuai daerah tubuh dan ukuran yang bervariasi sesuai dengan status gizi yang bersangkutan. Lapisan ini juga disebut sebagai jaringan subkutan dan jika cukup tebal disebut panikulus adiposus (Kalangi, 2013).



Gambar 2.2

Anatomi Kulit

Sumber : (Kalangi, 2013).

2.2.2. Warna Kulit

Warna kulit sangat beragam, dari yang berwarna putih mulus, kuning, cokelat, kemerahan atau hitam. Warna kulit terutama ditentukan oleh (Kalangi, 2013):

1. Oxyhemoglobin yang berwarna merah
2. Hemoglobin tereduksi yang berwarna merah kebiruan
3. Melanin yang berwarna cokelat
4. Keratohyalin yang memberikan penampakan opaque pada kulit
5. Lapisan-lapisan stratum corneum yang memiliki warna putih kekuningan atau keabu-abuan.

Pigmen menentukan warna kulit. Jumlah, tipe, ukuran dan distribusi pigmen melanin ini akan menentukan variasi warna kulit. Semakin banyak melanin yang terbentuk, maka semakin gelap kulit tersebut. Melanin adalah pigmen alamiah kulit yang memberikan warna cokelat. Melanin dibuat dari tirosin sejenis asam amino dengan oksidasi tirosin diubah menjadi butiran-butiran melanin yang berwarna cokelat, serta untuk proses ini perlu adanya enzim tirosinase dan oksigen. Oksidasi tirosin menjadi melanin berlangsung lebih lancar pada suhu yang lebih tinggi atau dibawah sinar ultraviolet. Jumlah, tipe, ukuran dan distribusi pigmen melanin kulit terjadi pada butir-butir melanosom yang dihasilkan oleh sel-sel melanosit yang terdapat di antara sel-sel basal di dalam lapisan-lapisan benih (Suryani, 2020).

Pembentukan melanosom di dalam melanosit melalui 4 fase yaitu (Kalangi et al., 2009):

1. Fase I permulaan pembentukan melanosom dari matriks protein dan tirosinase diliputi membrane dan berbentuk vesikula bulat.
2. Fase II disebut pramelanosom, pembentukan belum sempurna belum terlihat adanya pembentukan melanin.
3. Fase III mulai tampak adanya deposit melanin di dalam membrane vesikula. Dalam fase ini mulai terjadinya melanisasi melanosom.
4. Fase IV deposit melanin memenuhi melanosom yang merupakan partikel-partikel padat dan berbentuk sama.

2.2.3. Eritema dan Pigmentasi

Eritema atau *sunburn* adalah bentuk luka bakar yang mempengaruhi jaringan kulit yang disebabkan oleh paparan radiasi sinar UV berlebih. Biasanya gejala normal terdiri dari kulit kemerahan dan panas jika disentuh (Hamdin et al., 2020).

Kulit yang terpapar sinar matahari selama antara 6-20 jam akan menghasilkan eritema yang cepat atau lambat menimbulkan pencoklatan kulit (*tanning*). Kejadian *tanning* cepat tampak jelas 1 jam setelah kulit terpapar matahari dan kemudian akan hilang dalam waktu 4 jam. Pada fase ini, tidak tampak adanya pembentukan melanosom baru. *Tanning* lambat terjadi 48-72 jam setelah kulit terpapar sinar UV-A. Hal ini disebabkan oleh pembentukan melanosom-melanosom baru secara perlahan, dan baru terlihat dalam waktu 72 jam (Latifah et al., 2013).

Roshni dkk. (2014) menyatakan bahwa reaksi kulit yang terkena sinar UV adalah kerusakan kulit seperti *sunburn* tetapi dalam memicu mekanisme pertahanan untuk mengembalikan kerusakan dan meningkatkan produksi melanin untuk mencegah kerusakan. Melanin menyerap cahaya gelombang UV bertindak sebagai *photoprotectant*. Derajat *sunburn* yang ditimbulkan digolongkan menjadi 4 macam yaitu:

1. Luka Bakar Tingkat Pertama (*First-Degree*)

Luka bakar tingkat pertama hanya melibatkan epidermis, seperti sengatan matahari, nyeri, dan kering. Luka bakar tingkat pertama biasanya sembuh dalam 5-10 hari.

2. Luka Bakar Tingkat Kedua (*Superficial Second – Degree*)

Luka bakar tingkat kedua melibatkan epidermis dan sampai bagian epidermis ditandai dengan melepuh, basah dan pucat ketika disentuh. Luka bakar ini sembuh dalam waktu 2 minggu dan umumnya tidak menyebabkan kulit kasar namun perubahan warna memungkinkan.

3. Deep Partial – Thickness (*Deep Second- Degree*)

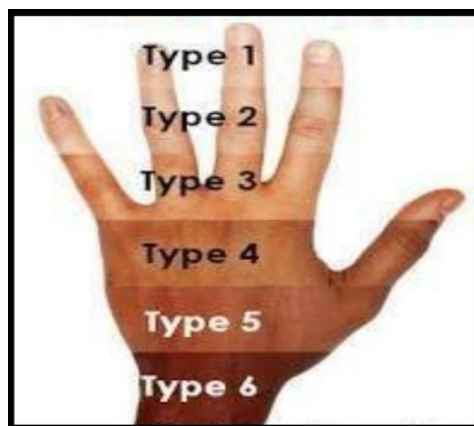
Deep Partial – Thickness melibatkan lebih dalam lapisan dermis yaitu dermis reticular, ditandai tanpa putih dan tidak pucat, luka bakar ini tidak sembuh dalam waktu kurang dari 3 minggu dan mengakibatkan kulit kasar.

4. Luka Bakar Tingkat Ketiga (*Third – Degree*)

Luka bakar tingkat ketiga menghancurkan semua lapisan kulit termasuk lemak subcutan yang mendasarinya ditandai dengan cokelat tua dan kasar serta sudah tidak memiliki rasa ketika disentuh.

Kulit terbagi atas beberapa tipe kulit yaitu (Fitzpatrick, 2017):

1. Tipe 1 merupakan tipe kulit yang selalu terbakar, namun tak pernah menjadi cokelat
2. Tipe 2 merupakan tipe kulit yang mudah terbakar, namun jarang menjadi cokelat
3. Tipe 3 merupakan tipe kulit yang kadang – kadang terbakar, namun mudah menjadi cokelat
4. Tipe 4 merupakan tipe kulit yang tidak pernah terbakar, namun mudah menjadi cokelat
5. Tipe 5 merupakan tipe kulit yang berwarna coklat secara genetik
6. Tipe 6 merupakan tipe kulit yang secara genetik hitam.



Gambar 2.3

Tipe-Tipe Kulit

Sumber: (Fitzpatrick, 2003)

Respon pertama terhadap radiasi UV adalah peningkatan distribusi melanosom. Hal ini dengan cepat dapat meningkatkan pigmentasi pada lapisan basal (*stratum basalis*), sehingga warna kulit menjadi cokelat karena sinar matahari. Apabila stimulan dihentikan,

warna coklat dapat dihentikan, warna coklat cepat menghilang atau mengelupas seiring dengan pergantian normal epidermis. Kulit yang terpapar dengan sinar matahari lebih lama, maka produksi melanin meningkat lagi secara permanen (Brown, 2005).

2.3. Melanin

Melanin merupakan pigmen yang dihasilkan oleh melanosit dari polimerisasi dan oksidasi pada proses melanogenesis dan pembentukannya memerlukan adanya enzim tirosinase (Mustika et al., 2020). Melanin memiliki dua jenis pigmen utama yaitu :

1. Eumelanin memberikan warna coklat atau coklat gelap dan hitam. Mempunyai berat molekul tinggi, mengandung nitrogen, dan terjadi karena proses oksidasi dan polimerisasi bentuk 5,6 dihidroksiindol dan 5,6 dihidroksiindol 2 asam karboksil.
2. Feomelanin memberikan warna cerah, kuning hingga coklat kemerahan. Mengandung nitrogen dan sulfur dan terjadi karena proses polimerasi *sistenildopa*. Selain itu juga dikenal tipe pigmen lain yaitu *oksimelanin*, *trichrome*, melanin campuran (*mixed type melanins*) dan *neuromelanin*.

Melanin memiliki fungsi-fungsi sebagai berikut:

1. Memberi warna pada kulit;
2. Sebagai substansi fotoproteksi (tabir surya alami);
3. Sebagai komponen pengikat obat (*drugs – binding agents*);
4. Sebagai “*energy transducer*” melanin mampu mengubah beberapa bentuk energy menjadi panas dan kemudian dilepaskan (Suryani, 2020).

2.4. Melanogenesis

Mamoto (2009) menyatakan bahwa proses biokimia pigmentasi kulit (melanogenesis) bersifat sangat kompleks. Proses melanogenesis ini menghasilkan pigmen, eumelanin dan feomelanin. Baik eumelanin maupun feomelanin keduanya adalah derivat tirosin melalui beberapa tahapan. Tirosin mengalami proses oksidasi menjadi 3,4-dihidroksi-fenilalanin (DOPA) oleh aktivitas enzim tirosinase dan kemudian dioksidasi lagi menjadi bentuk dopakuinon. Setelah tahap ini, jalur melanogenesis terbagi menjadi dua bagian, yaitu eumelanogenesis dan feomelanogenesis.

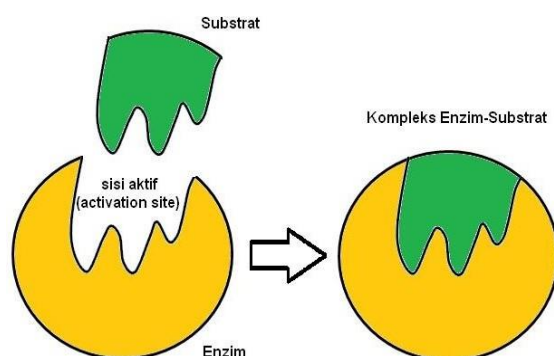
Jalur eumelanogenesis, senyawa dopakuinon mengalami oksidasi menjadi bentuk leuko-dopakrom (siklodopa) yang secara cepat pula berubah menjadi bentuk dopakrom. Selanjutnya dopakrom mengalami perubahan bentuk menjadi 5,6 dihidroksiindol dan 5,6 dihidroksiindol 2 asam karboksilik. Pada tahap akhir pembentukan pigmen eumelanin apakah lebih dipengaruhi oleh polimerisasi senyawa 5,6 dihidroksiindol atau 5,6 dihidroksiindol 2 asam karboksilik sampai saat ini masih kontroversial.

Jalur feomelanogenesis, penambahan kelompok sulfhidril (sisten ataupun glutation) pada senyawa dopakuionon, akan menyebabkan reaksi non enzimatis secara cepat pada metabolisme melanosit sehingga terbentuk senyawa sisteinildopa. Kemudian senyawa ini mengalami oksidasi menjadi benzoizininilalanin sampai pada tahap terbentuknya pigmen feomelanin.

2.5. Enzim

Enzim merupakan molekul biologis yang berfungsi mempercepat reaksi biokimia tertentu dan menghasilkan produk yang spesifik. Enzim seperti halnya protein lain, disintesis oleh jaringan tubuh untuk memenuhi kebutuhan metabolik. Enzim berkerja dengan cara menempel pada permukaan zat- zat yang bereaksi dan dengan demikian mempercepat proses reaksi. Percepatan terjadi karena enzim menurunkan energi pengaktifan yang dengan sendirinya akan mempermudah terjadinya reaksi. Sebagian besar enzim bekerja secara khas, yang artinya setiap jenis enzim hanya dapat bekerja pada satu macam senyawa atau reaksi kimia. Hal ini disebabkan perbedaan struktur kimia tiap enzim yang bersifat tetap (Purwani, 2018).

Substrat berikatan dengan sisi aktif suatu enzim melalui beberapa bentuk ikatan kimia yang lemah (misalnya interaksi elektrostatik, ikatan hydrogen, ikatan van der Waals dan interaksi hidrofobik). Setelah berikatan dengan bagian sisi aktif enzim, substrat bersama-sama enzim kemudian membentuk suatu kompleks enzim-substrat, selanjutnya terjadi proses katalisis oleh enzim untuk membentuk produk. Ketika produk sudah terbentuk enzim menjadi bebas kembali untuk selanjutnya bereaksi kembali dengan substrat (Hasrawati, 2019).



Gambar 2.4

Mekanisme Kerja Enzim

Sumber :(Hasrawati, 2019)

1. Ikatan enzim dijelaskan oleh model *Lock and Key* dan *induced-fit model*. Prinsip ikatan enzim dan substrat dijelaskan sebagai berikut (Wahyuni, 2017). Model *Lock* dan *key* yang diajukan oleh Emil Fisher pada tahun 1984, yang menyatakan bahwa bentuk molekul substrat dengan sisi aktif enzim serupa dengan anak kunci dengan kuncinya.
2. Model *Induced-fit* diajukan pada tahun 1958 oleh Daniel Koshland yang menyatakan bahwa terikatnya substrat menyebabkan perubahan konformasi pada bagian sisi aktif enzim.

Kerja enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor utama yaitu pH, temperatur, konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, dan konsentrasi kofaktor (Kusumaningrum, 2019).

1. Temperatur

Pada suatu reaksi enzimatik, temperatur mempengaruhi kestabilan enzim. Kenaikan temperatur sampai sedikit di atas temperatur optimumnya dapat menyebabkan penurunan aktivitas enzim, sedangkan pada temperatur jauh di atas temperatur optimumnya enzim akan mengalami denaturasi hingga enzim kehilangan aktivitas katalitiknya. Enzim tirosinase stabil pada temperatur -20°C (Kusumaningrum, 2019).

2. pH

Enzim juga sangat dipengaruhi oleh pH. Enzim pada umumnya aktif pada rentang pH yang sempit. Karena enzim merupakan protein, perubahan pH dapat mempengaruhi gugus-gugus amino dan karboksilat dari protein enzim. Perubahan pH dapat mengakibatkan terjadinya perubahan bentuk ionik dari sisi aktif enzim. Diluar pH optimumnya, enzim memperlihatkan aktivitas katalitik yang rendah atau kehilangan aktivitas katalitiknya (Kusumaningrum, 2019).

3. Konsentrasi Enzim

Pada konsentrasi substrat tetap, dalam batas tertentu, laju suatu reaksi enzimatis meningkat sebanding dengan meningkatnya konsentrasi enzim. Hal ini berarti makin banyak enzim, sampai batas tertentu, makin banyak substrat yang terkonversi karena makin tinggi aktivitas enzim (Kusumaningrum, 2019).

4. Konsentrasi Substrat

Konsentrasi substrat dapat mempengaruhi laju produksi dan aktivitas katalitik enzim. Laju pembentukan produk meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi substrat hingga dicapai laju reaksi maksimum untuk kemudian turun kembali mulai harga konsentrasi substrat tertentu (Kusumaningrum, 2019).

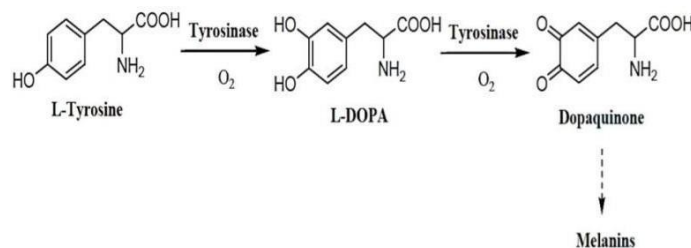
5. Konsentrasi Kofaktor

Jenis enzim yang memerlukan kofaktor berupa ion logam disebut metaloenzim. Di dalam beberapa metaloenzim, komponen logamnya itu sendiri ada yang telah memiliki aktivitas katalitik. Aktivitas enzim akan memperoleh peningkatan sangat besar setelah bergabung dengan kofaktor logamnya. Sebagai contoh, enzim amylase dan protease akan memiliki stabilitas dan kemampuan katalisis lebih tinggi apabila terdapat ion kalsium (Kusumaningrum, 2019).

2.6. Enzim Tyrosinase

Enzim tirosinase merupakan enzim mono-oksigenase yang memiliki gugus ion logam tembaga (Cu^{2+}). Tirosinase memiliki berat molekul sebesar 113.000 dalton (Ayu, 2015). Enzim yang berperan penting pada jalur sintesis melanin adalah tirosinase. Tirosinase memiliki aktivitas hidrosilasi tirosin, oksidasi L-DOPA (3,4-

dihidroksifenilalanin) dan oksidasi hidroksi-indol. Tirosinase dapat mengkatalisis beberapa langkah dalam biosintesis melanin. Enzim tirosinase bekerja megubah tirosin menjadi 3,4-dihidroksifenilalanin (DOPA), kemudian menjadi dopakuinon yang selanjutnya melalui beberapa tahap transformasi dikonversi menjadi melanin (Charissa et al., 2016).



Gambar 2.5

Reaksi Oksidasi dengan Katalis Enzim Tirosinase

Sumber: (Hasrawati, 2019)

Penghambatan tirosinase disebut juga penghambatan melanogenesis, yakni senyawa yang dapat mengganggu pembentukan melanin, baik secara langsung menghambat atau hanya berinteraksi dengan enzim (Chang, 2009). Beberapa senyawa yang berfungsi sebagai inhibitor tirosinase, diantaranya adalah merkuri, hidrokuinon, arbutin, *alpha* – hydroxyl acid (AHA), asam kojat, asam askorbat dan beberapa senyawa turunan fenol. Dari banyaknya senyawa inhibitor tirosinase yang telah diketahui terdapat senyawa yang memberikan efek negatif bila dipakai pada kulit dalam jangka panjang seperti merkuri, hidrokuinon, dan AHA. Hidrokuinon memberikan efek toksik karena zat ini berkompetisi dengan tirosin sebagai substrat tirosinase sehingga menstimulasi tirosinase mengoksidasi hidrokuinon menjadi benzokuinon (Hasrawati, 2019).

Chang (2019) menyatakan bahwa mekanisme inhibisi tirosinase dapat dilakukan dengan beberapa cara sebagai berikut :

1. Agen pereduksi yang dapat mereduksi dopakuinon, seperti asam askorbat.
2. O-Dopakuinon *scavenger* seperti pada komponen yang mengandung gugus tiol dapat bereaksi dengan dopakuinon untuk membentuk produk tanpa warna.
3. Substrat enzim alternatif yang dapat menyerap hasil reaksi kuinoid yang bukan dari produk dopakrom, seperti pada kebanyakan komponen fenolik.

4. Inaktivator enzim non-spesifik yang tidak secara khusus mendenaturasi enzim sehingga dapat menghambat aktivitasnya, seperti asam atau basa.
5. Inaktivator tirosinase spesifik yang dapat mengkalisi tirosinase dan membentuk ikatan kovalen dengan enzim sehingga menginaktivasi secara irreversible. Inhibitor jenis ini dikenal dengan *suicide substrates*.
6. Inhibitor tirosinase spesifik yang berikatan reversible dengan tirosinase dan mereduksi kapasitas katalisisnya.

Agen penghambatan tirosinase dapat dikelompokkan menjadi lima golongan yaitu senyawa polifenol, turunan benzaldehid dan benzoat, steroid dan lipid rantai panjang, agen penghambatan alami atau sintetik dan agen inaktivator *irreversible* (Husna, 2019).

2.7. Asam kojat

Asam kojat merupakan bahan kimia Asam Kojic (*5-hydroxyl – 2-hydroxyl methyl-4-pyrone*) yaitu produk jamur hidrofilik yang berasal dari spesies tertentu *Acetobacter*, *Aspergillus* dan *Penicillium*. Asam kojat mengurangi hiperpigmentasi dengan menghambat produksi tirosinase bebas dan juga antioksidan kuat. Aktivitas penghambatannya dilakukan oleh penghambatan aktivitas katekolase tirosinase, yang merupakan enzim esensial dalam biosintesis pigmen melanin. Mirip dengan pencerah kulit lainnya seperti hidroquinon dan arbutin, asam kojat menghambat enzim tirosinase, terutama disebabkan karena asam kojat dapat mengkelatkan tembaga. (Soyata & Chaerunisaa, 2020).

2.8. Studi In-Silico

Studi *in silico* merupakan pendekatan pada suatu kondisi atau keadaan nyata ke dalam simulasi komputer dengan menggunakan program tertentu dalam mendesain obat. Metode *in-silico* merupakan suatu metode yang menarik dan menjanjikan dalam mengidentifikasi senyawa baru karena lebih cepat dan biaya yang lebih ekonomis. *In silico* ini cakupannya cukup luas, termasuk diantaranya (Shofi, 2021) :

1. Studi *Docking* merupakan pembelajaran komputasi pada ligan atau obat yang akan berikatan dengan protein target.
2. Formasi kimia merupakan aktivitas dan struktur berkorelasi dengan menggunakan sarana statistika.

3. Bioinformatika yaitu informasi mengenai target obat berasal dari data genom.

Molecular docking merupakan suatu prosedur komputasi untuk memprediksikan konformasi protein atau molekul asam nukleat (DNA atau RNA) dan ligan yang merupakan molekul kecil atau protein lain. Dengan kata lain, *molecular docking* mencoba untuk memprediksi struktur antarmolekul yang kompleks terbentuk antara dua atau lebih konstituen molekul (Nurhikmah, 2021)

Peningkatan efisiensi dan keandalan alat komputasi telah memungkinkan penapisan *in silico* untuk menjadi metode rutin dalam penemuan obat, melengkapi penelitian secara *in vitro* dengan memprediksikan toksisitas yang terjadi. Setelah memiliki protokol penapisan secara *in silico* yang validasinya telah diketahui, maka dapat dilakukan uji terhadap senyawa apapun, baik yang tersedia maupun hipotesis termasuk senyawa-senyawa yang diidentifikasi dalam tanaman obat, kelebihan dari studi *in-silico* adalah kemampuan untuk membedakan senyawa aktif dan in aktif (tidak aktif) sehingga hal ini dapat menghemat waktu dan sumber daya lainnya. Studi *in-silico* melibatkan sejumlah besar data molekul dan mengurutkannya dari yang terbaik hingga yang terburuk, bahkan ada beberapa diantaranya yang tidak bisa berikatan dengan reseptor, sehingga tidak dapat dilibatkan dalam percobaan selanjutnya. (Irwin, 2008).

Docking juga menggambarkan suatu proses yang dilakukan oleh dua molekul secara bersamaan dalam ruang tiga dimensi. *Molecular docking* telah memberikan kontribusi yang sangat penting dalam proses penemuan obat selama bertahun – tahun. Salah satu motivasi utama dalam penemuan obat adalah mengidentifikasi kedudukan molekul kecil yang inovatif, menunjukkan afinitas pengikatan yang tinggi, dan selektivitas pada target yang bersamaan dengan suatu kelayakan profil ADME (Absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi). Desain obat-obatan memerlukan teknik untuk menentukan dan memprediksi geometri, konformasi, dan sifat elektronik molekul yang kecil (obat dengan berat molekul kurang dari 800) dan makromolekul (Suharna, 2012).

2.9. Bank Data Protein (Protein Data Bank)

Protein Data Bank (PDB) adalah sebuah dokumen atau kumpulan data eksperimental struktur tiga dimensi dari makromolekul. Data-data tersebut berisi koordinat

atom, struktur kristalografi, dan data eksperimen mengenai NMR. Setiap data memiliki nama molekul, informasi mengenai struktur utama dan tambahan, keterangan sekuens *database*, serta informasi mengenai ligan.

Research Collaboratory for Structural Bioinformatics (RCSB) yang bertanggung jawab dalam pengaturan data dalam PDB. Secara umum, RCSB berkeinginan untuk menciptakan sumber berdasarkan teknologi modern sehingga data dapat digunakan untuk analisis struktur, yang lebih lanjut dapat digunakan untuk analisis secara biologis (*Protein Data Bank Contents Guide : Atomic Coordinate Entry Format Description Version 3.20.*,2008).

2.10. PubChem

PubChem (<http://PubChem.ncbi.nlm.nih.gov>) adalah gudang informasi molekuler untuk umum, sebuah karya ilmiah dari Institut Kesehatan Nasional Amerika (*US National Institutes of Health / NIH*). Basis data *PubChem* memiliki lebih dari 27 juta catatan struktur kimia khusus dari senyawa yang berasal dari hampir 70 juta senyawa endapan, dan berisi lebih dari 449.000 catatan *bioassay* dengan lebih dari ribuan biokimia *in vitro* dan skrining berbasis sel, dengan menargetkan lebih dari 7000 protein dan gen yang terhubung dengan lebih dari 1,8 juta senyawa (Xie, 2010). Pada situs *PubChem* ini dapat diunduh struktur kimia dari suatu senyawa secara gratis yang dibutuhkan dalam studi penambatan molekul.

2.11. Lipinski's Rule Of Five

Kriteria senyawa yang berpotensi sebagai obat yang baik harus mengikuti aturan-aturan yang terdapat dalam *Lipinski's rule of five*, dimana aturan ini membantu untuk menunjukkan tingkat absorpsi atau permeabilitas senyawa terhadap lipid bilayer yang terdapat di dalam tubuh manusia (Rachmania et al., 2015).

Menurut (Rachmania et al., 2015) analisis sifat mirip obat (*drug likeness*) berdasarkan *Lipinski's rule of five* yang menyatakan bahwa suatu senyawa harus memiliki kriteria yang mirip dengan obat yaitu :

1. Berat molekul (BM) senyawa kurang dari 500 Dalton karena semakin tinggi nilai berat molekul suatu senyawa akan menyebabkan senyawa tidak dapat berdifusi menembus membran sel,
2. Nilai koefisien partisi log P kurang dari 5 karena nilai log P yang lebih tinggi akan menyebabkan molekul tidak dapat melewati membrane lipid bilayer, semakin besar nilai log P , maka semakin hidrofobik molekul tersebut. Molekul yang memiliki sifat terlalu hidrofobik cenderung memiliki tingkat toksisitas yang besar karena akan tertahan lebih lama pada lipid bilayer dan terdistribusi lebih luas di dalam tubuh sehingga selektivitas ikatan menjadi berkurang terhadap enzim target.
3. Jumlah donor ikatan hidrogen (*hydrogen bond donor*) tidak lebih dari 5,
4. Jumlah akseptor ikatan hidrogen (*hydrogen bond acceptor*) tidak lebih dari 10 karena banyaknya jumlah ikatan hidrogen akan semakin tinggi energi yang dibutuhkan supaya proses absorpsi terjadi.
5. Molar refractivity (MR) yang menyatakan ukuran nilai total polarisabilitas dari molekul senyawa. Nilai parameter yang baik yaitu berkisar antara 40-140.

2.12. PkCSM®

Prediksi Sifat farmakokinetik dan toksisitas dapat dilakukan secara *in-silico*, salah satunya dengan menggunakan web server pkCSM (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/prediction>) dimana kinerja pkCSM merupakan sebuah metode terbaik untuk prediksi toksisitas juga dapat digunakan sebagai prediksi sifat farmakokinetik senyawa. Pada dataset validasi eksternal pkCSM menunjukkan akurasi 83%. (Pires et al., 2015). Beberapa yang hal diprediksi pkCSM yaitu sebagai berikut :

1. Absorpsi
 - a. Kelarutan Air

Kelarutan merupakan parameter penting bagi suatu obat dalam mencapai konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghasilkan respon farmakologi. Banyak obat memiliki kelarutan yang buruk di dalam air, padahal obat harus berada dalam bentuk terlarut ketika akan diabsorpsi (Yoga & Hendriani, 2013).

Kelarutan air yang diprediksi dari suatu senyawa diberikan sebagai logaritma dari konsentrasi molar ($\log \text{ mol/L}$).

b. Permeabilitas Caco-2

Sel CaCO-2 digunakan model *in vitro* dari mukosa usus manusia untuk memprediksi penyerapan obat yang diberikan secara oral. Sel ini berdiferensiasi membentuk lapisan monolayer pada sel epitel yang menyediakan barrier fisika dan biokimia untuk lewatnya ion dan molekul kecil (Abdullah et al., 2022).

Garis sel Caco-2 terdiri atas sel adenokarsinoma kolorektal epitel manusia. Caco-2 monolayer sel banyak digunakan sebagai model *in vitro* dari mukosa usus manusia untuk memprediksi penyerapan obat yang diberikan secara oral.

Suatu senyawa dianggap memiliki permeabilitas Caco-2 yang tinggi jika memiliki $P_{app} > 8 \times 10^{-6} \text{ cm/s}$. Untuk model prediktif pkCSM, permeabilitas Caco2 yang tinggi akan menghasilkan nilai prediksi $> 0,90$ (Pires et al., 2015).

c. Penyerapan Usus (Manusia)

Human Intestinal Absorption merujuk ke usus untuk penyerapan obat dari larutan yang diberikan secara oral (Abdullah et al., 2022). Usus merupakan tempat utama untuk penyerapan obat dari larutan yang diberikan secara oral. Metode ini dibangun untuk memprediksi proporsi senyawa yang diserap melalui usus halus manusia. Untuk senyawa tertentu memprediksi persentase yang akan diserap melalui usus manusia.

Sebuah molekul dengan absorpsi kurang dari 30% dianggap kurang diserap, sedangkan molekul dengan absorpsi lebih dari 80% dianggap memiliki penyerapan yang baik.

d. Permeabilitas Kulit

Permeabilitas kulit merupakan pertimbangan yang penting dalam efektivitas obat, terutama dalam pengembangan penghantaran rute obat transdermal. Algoritma ini memprediksi apakah bila senyawa yang diberikan

cenderung permeabel pada kulit, dinyatakan sebagai konstanta permeabilitas kulit $\log K_p$ (cm/h).

Senyawa yang memenuhi kriteria permeabilitas kulit berpotensi untuk dikembangkan dengan dibuat dalam bentuk sediaan topikal Suatu senyawa dianggap memiliki permeabilitas kulit yang relatif rendah jika memiliki $\log K_p > -2,5$.

e. Substrat P-glikoprotein

P-glikoprotein adalah ATP-binding cassette (ABC). Berfungsi sebagai penghalang biologis dengan mengeluarkan racun dan xenobiotik dari sel. Model tersebut memprediksi apakah senyawa yang diberikan cenderung menjadi substrat Pgp atau tidak.

f. Inhibitor P-glikoprotein I dan II

Modulasi transportasi yang dimediasi P-glikoprotein memiliki implikasi farmakokinetik yang signifikan untuk substrat Pgp, yang dapat dijadikan dasar untuk prediksi terapeutik spesifik atau menghasilkan kontraindikasi.

2. Distribusi

a. VDss (Manusia)

Volume distribusi keadaan tunak (VDss) adalah volume teoretis bahwa dosis total suatu obat perlu didistribusikan secara merata untuk memberikan konsentrasi yang sama seperti dalam plasma darah. Semakin tinggi VD semakin banyak obat didistribusikan dalam jaringan pada plasma.

VDss dianggap rendah jika di bawah 0,71 L/kg ($\log VD_{ss} < -0,15$) dan tinggi jika di atas 2,81L/kg ($\log VD_{ss} > 0,45$).

b. Fraksi Tidak Terikat (Manusia)

Sebagian besar obat dalam plasma akan berada dalam kesetimbangan antara keadaan tidak terikat atau terikat pada protein serum. Efektivitas obat tertentu dapat dipengaruhi oleh sejauh mana ia mengikat protein dalam darah, karena semakin banyak yang terikat semakin kurang efisien ia dapat melintasi membran sel atau berdifusi.

c. Permeabilitas Sawar Darah Otak

Otak dilindungi dari senyawa eksogen oleh blood-brain barrier(BBB). Kemampuan suatu obat untuk masuk ke otak merupakan parameter penting yang perlu diperhatikan untuk membantu mengurangi efek samping dan toksisitas atau untuk meningkatkan efikasi obat yang aktivitas farmakologisnya ada di dalam otak. Untuk senyawa tertentu, $\log BB > 0,3$ dianggap mudah melewati sawar darah-otak sementara molekul dengan $\log BB$.

d. Permeabilitas SSP

Area permukaan permeabilitas darah-otak ($\log PS$) adalah pengukuran yang lebih tepat. Diperoleh dari perfusi otak dengan senyawa yang langsung disuntikkan ke dalam arteri karotis. Tidak memiliki efek distribusi sistemik yang dapat mendistorsi penetrasi otak. Senyawa dengan $\log PS > -2$ dianggap dapat menembus Sistem Saraf Pusat (SSP), sedangkan dengan $\log PS < -3$ dianggap tidak dapat menembus SSP.

3. Metabolisme

a. Substrat CYP2D6/CYP3A4

Sitokrom P450 bertanggung jawab untuk metabolisme banyak obat. Namun penghambat P450 dapat secara signifikan mengubah farmakokinetik. Oleh karena itu penting untuk menilai apakah senyawa yang diberikan kemungkinan merupakan substrat atau

Inhibitor sitokrom P450. Dua isoform utama yang bertanggung jawab untuk metabolisme obat adalah 2D6 dan 3A4.

Sitokrom P450 adalah enzim detoksifikasi penting dalam tubuh, terutama ditemukan di hati. Mengoksidasi xenobiotik untuk memfasilitasi ekskresi mereka. Banyak obat dinonaktifkan oleh sitokrom P450, dan beberapa dapat diaktifkan olehnya.

Inhibitor enzim ini dapat mempengaruhi metabolisme obat dan dikontraindikasikan. Oleh karena itu penting untuk menilai kemampuan suatu senyawa untuk menghambat sitokrom P450. Prediktor akan menilai molekul

tertentu untuk menentukan apakah kemungkinan akan menjadi inhibitor sitokrom P450, untuk isoform tertentu.

4. Eksresi

a. Klirens Total

Klirens obat diukur dengan konstanta proporsionalitas CL_{tot} , dan terjadi terutama sebagai kombinasi klirens hati (metabolisme di hati dan klirens empedu) dan klirens ginjal (ekskresi melalui ginjal). Ini terkait dengan bioavailabilitas, dan penting untuk menentukan laju dosis untuk mencapai konsentrasi tunak. Total clearance log (CL_{tot}) yang diprediksi dari suatu senyawa diberikan dalam $\log(\text{ml}/\text{min}/\text{kg})$.

b. Substrat OCT2 ginjal

Transporter Kation Organik 2 adalah transporter serapan ginjal yang memainkan peran penting dalam disposisi dan pembersihan ginjal obat dan senyawa endogen. Substrat OCT2 juga memiliki potensi interaksi yang merugikan dengan inhibitor OCT2 yang diberikan bersama. Menilai potensi kandidat untuk diangkut oleh OCT2 memberikan informasi yang berguna tidak hanya mengenai izinnnya tetapi juga potensi kontraindikasi. Prediktor akan menilai apakah molekul tertentu kemungkinan merupakan substrat OCT2.

5. Toksisitas

a. Toksisitas Akut Oral Tikus (LD50)

Penting untuk mempertimbangkan potensi toksik dari suatu senyawa potensial. Nilai dosis mematikan (LD50) adalah pengukuran standar toksisitas akut yang digunakan untuk menilai toksisitas relatif dari molekul yang berbeda. LD50 adalah jumlah senyawa yang diberikan sekaligus yang menyebabkan kematian 50% dari sekelompok hewan uji.

b. Toksisitas T. Pyriformis

T.pyriformis merupakan eukaryot, organel-organel dan membran dinding sel sama dengan sel eukaryot. Kebutuhannutrisi dan metabolisme dalam tubuh T.pyriformis menyerupai metabolisme mamalia (hewan tinggi), karena itu protozoa ini banyak dipergunakan sebagai organisma penguji.

T. Pyriformis adalah bakteri protozoa, dengan toksisitasnya sering digunakan sebagai titik akhir toksik. Untuk senyawa tertentu, pIGC50 (logaritma negatif dari konsentrasi yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan 50% dalam log₁₀/L) prediksi dengan nilai $> -0,5 \log \mu\text{g/L}$ dianggap toksik.

c. Toksisitas Kronis Oral Tikus

Paparan bahan kimia dosis rendah-sedang dalam jangka waktu yang lama menjadi hal yang penting dalam pengobatan. Studi toksisitas kronis bertujuan untuk mengidentifikasi dosis terendah dari suatu senyawa yang menghasilkan efek samping yang diamati. Untuk senyawa ligan uji, diprediksi Lowest Observed Adverse Effect (LOAEL) dalam satuan log(mg/kg_{bw}/hari).

d. Dosis Toleransi Maksimum (Manusia)

Dosis toleransi maksimum yang direkomendasikan (MRTD) memberikan perkiraan ambang batas dosis toksik bahan kimia pada manusia. Untuk senyawa tertentu, MRTD kurang dari atau sama dengan 0,477 log(mg/kg/hari) dianggap rendah, dan tinggi jika lebih besar dari 0,477 log(mg/kg/hari).

e. hERG I dan II Inhibitor

Penghambatan kanal kalium yang dikodekan oleh hERG (human ether-ago-gen gene) adalah penyebab utama perkembangan sindrom panjang yang menyebabkan aritmia ventrikel yang fatal. Penghambatan saluran hERG telah mengakibatkan penarikan banyak zat dari pasar farmasi. Prediktor akan menentukan apakah suatu senyawa tertentu cenderung menjadi penghambat hERG I/II.

f. Hepatotoksisitas

Cedera hati yang diinduksi oleh obat adalah masalah keamanan utama untuk pengembangan obat dan karena efek samping ini banyak terjadi pengurangan obat. Algoritma ini memprediksi apakah senyawa tertentu kemungkinan terkait dengan fungsi normal hati yang terganggu.

g. Toksisitas AMES

Uji Ames Toxicity adalah metode yang digunakan secara luas untuk menilai potensi mutagenik senyawa dengan menggunakan bakteri. Hasil uji positif menunjukkan bahwasenyawa tersebut bersifat mutagenik dan oleh karena itu dapat bertindak sebagai karsinogen.

2.13. Aplikasi

Studi *in-silico* memerlukan aplikasi-aplikasi dalam melakukan *moleculardocking*. Aplikasi-aplikasi yang digunakan dalam studi *in-silico* adalah sebagai berikut.

1. AutoDock

Autodock merupakan program penambatan molekuler yang efektif yang secara cepat dan akurat dapat memprediksi konformasi dan energi dari suatu ikatan antara ligan dan target makromolekul. *Autodock* terdiri dari dua program utama, yaitu *Autodock* dan *Autodock grid*. *Autodock* untuk melakukan penambatan molekuler ligan dan protein target dengan *set grid* yang telah terdeskripsi. Pendeskripsian ini dilakukan sebelumnya dengan *Autogrid*. Untuk memungkinkan pencarian konformasi, *Autodock* membutuhkan ruang pencarian dalam sistem koordinat dimana posisi ligan dianggap akan terikat (Morris dkk., 2009).

2. Discovery Studio Visualizer

Discovery Studio Visualizer merupakan perangkat lunak yang dapat digunakan untuk visualiasi struktur molekul agar dapat dilihat gambaran yang interaktif dari struktur tersebut. Perangkat ini dapat dilihat gambaran yang interaktif dari struktur tersebut. Perangkat ini menampilkan gambar yang berkualitas tinggi dari hasil visualisasi struktur senyawa. Aplikasi ini dapat digunakan di *Windows* dan *Linux* dan terintegrasi dengan desktop yang menyediakan akses ke fitur sistem operasi standar seperti sistem berkas, *clipboard*, dan percetakan (Jatmiko, 2020).

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di wilayah Kecamatan Koja. Kota Jakarta Utara, pada bulan April 2023 - Agustus 2023.

3.2. Alat

3.2.1. Perangkat Keras

Perangkat keras yang digunakan berupa satu buah laptop-2QDO1KR4 dengan spesifikasi USER Acer Swift SF314- AMD Ryzen 5 3500U with Radeon Vega Mobile Gfx (8 CPUs), Memory 4096MB RAM.

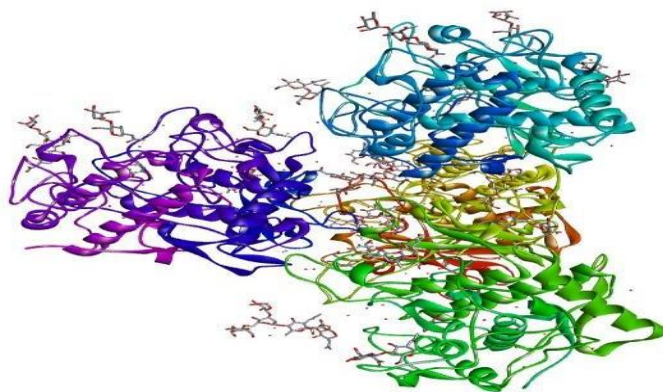
3.2.2. Perangkat Lunak

Perangkat lunak : Sistem Operasi *Windows 11 Enterprise 64 bit*, Aplikasi *Autodock.*, *Discovery studio 2016 client*, *Protein Data Bank* (<https://222.rcsb.org/pdb/>).

3.3. Bahan

Struktur Reseptor Crystal Struktur of Human Tyrosinase Related Protein 1 in complex with tropolone

Struktur reseptor Tyrosinase diunduh dari Bank Data Protein dengan situs <http://www.rcsb.org/pdb/> dengan format .pdb. dengan kode ID 5M8O. Data ini merupakan memiliki resolusi sebesar 2.50 Å yang mengikat tropolone sebagai *native* ligannya.



Gambar 3.1

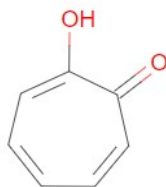
Struktur protein 5M8O

Sumber : Protein Data Bank

3.3.1. Struktur Ligan

Ligan yang digunakan adalah *Native Ligand* tropolone yang diunduh dari <http://PubChem.ncbi.nlm.nih.gov> dengan format .pdb.

1. Native Ligand



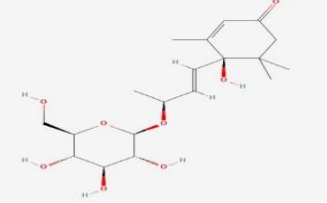
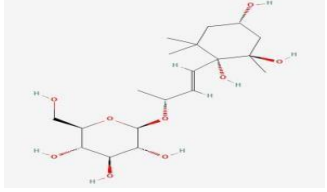
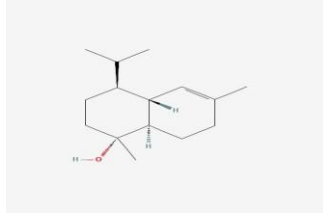

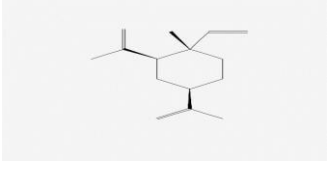
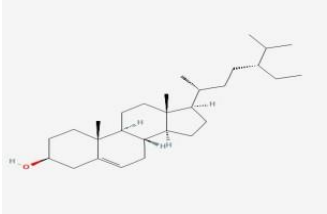
Gambar 3.2

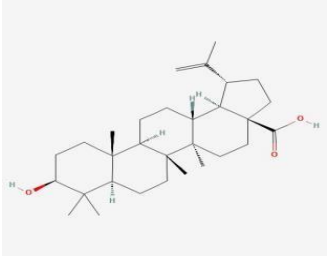
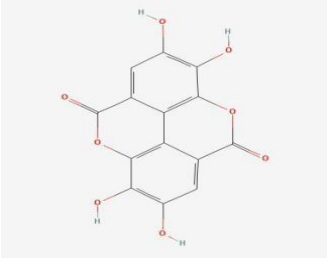
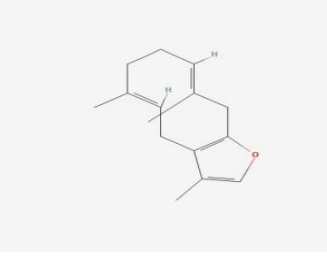
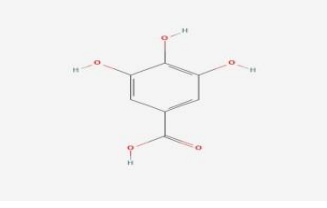
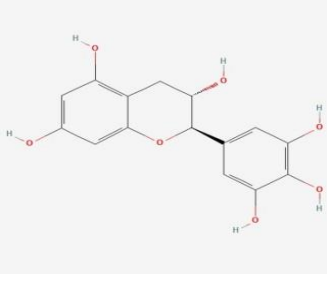
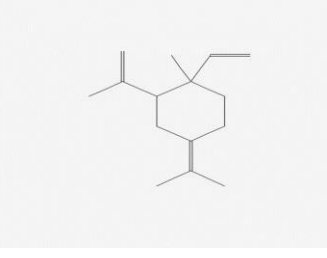
Struktur Native Ligand

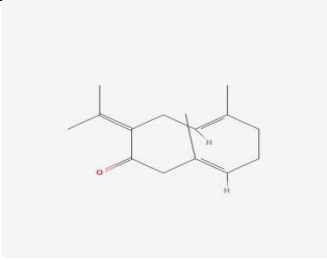
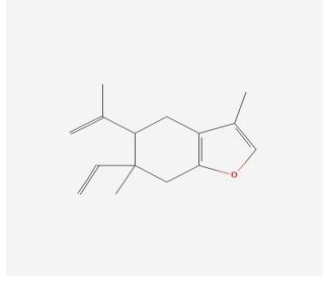
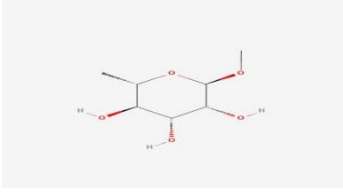
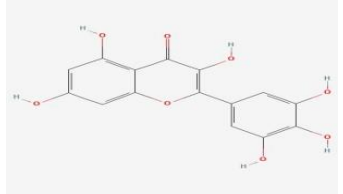
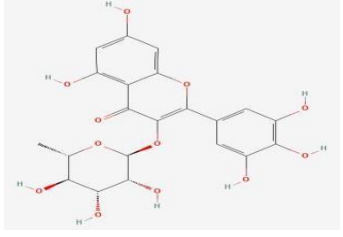
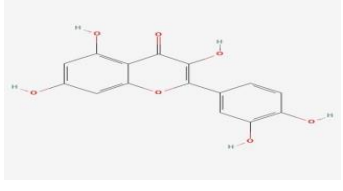
Sumber : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

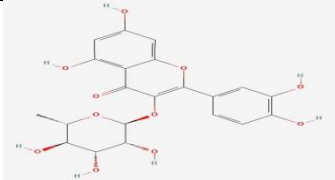
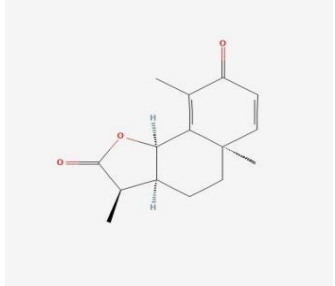
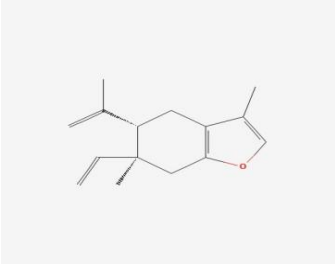
2. Senyawa Uji

Tabel 3.1
Senyawa uji Daun Dewandaru

No	Senyawa	Gambar Struktur
1	(6S,9R)-roseoside	
2	Actinidioionosid	
3	α -cadinol	
3	α -cadinol	
4	b-elemene	
5	β -sitosterol	

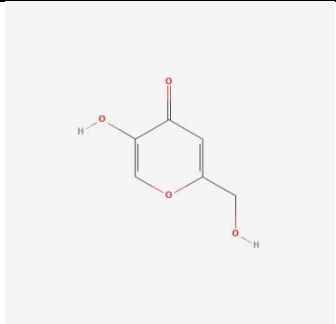
No	Senyawa	Gambar Struktur
6	Betulinik acid	
7	ellagic acid	
8	Furanodien	
9	Gallic acid	
10	Gallokatekin	
11	γ -elemene	

No	Senyawa	Gambar Struktur
12	Germacrone	
13	Kurzerene	
14	α -L- rhamnopyranosid	
15	mirisetin	
16	mirisitrin	
17	quercetin	

No	Senyawa	Gambar Struktur
18	quercitrin	
19	sesquiterpen	
20	furanoelemene	

Diperlukan juga data struktur senyawa yang berperan sebagai ligan pembanding yang diunduh melalui PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Kojic-acid>) seperti yang disajikan dalam table berikut.

Tabel 3.2
Data Senyawa Ligan Pembanding (Asam Kojat)

No	Senyawa	Gambar Struktur
1	Kojic Acid	

Sumber: (Pubchem,2023)

3.4. Prosedur Kerja

3.4.1. Preparasi dan analisis ligan

Ligan yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari studi literatur. Adapun ligan yang digunakan adalah (6S,9R)-roseoside, actinidioionosid, α -cadinol, b-elemene, β -sitosterol, betulinik acid, elagic acid, furanodien, gallic acid, gallokatekin, γ elemene, germacrone, kurzerene, α -L-rhamnopiranosid, mirisitrin, mirisetin, quercetin, sesquiterpene, furanoelemene, quercitrin. (Santoso, 2020). Semua ligan dianalisis berdasarkan aturan Lipinski dengan menilai sifat kimia dari ligan seperti H donor, H aseptor, dan logP (Lipinski, 2004). Struktur 3D ligand diperoleh dari database PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)

3.4.2. Preparasi protein

Protein target yang digunakan pada penelitian ini adalah protein reseptor tirosinase (PDB ID : 5M8O) yang diperoleh dari Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org>). Pemilihan protein dilakukan dengan kriteria pemilihan yaitu resolusi $<2.5 \text{ \AA}$ *X-ray diffraction* dengan nilai mutasi no. Protein yang diperoleh kemudian dipreparasi menggunakan perangkat lunak BIOVIA Discovery Studio untuk menghilangkan komponen-komponen tidak diinginkan seperti air, ligan, dan heteroatom sehingga diperoleh struktur polos dari protein, lalu disimpan dengan *save as type* format .pdb.

3.4.3. Penambatan molekuler

Studi penambatan molekuler dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak AutoDockTools (Prasetio dkk., 2021). Sisi aktif protein ditentukan dengan mengikuti lokasi ikatan dari ligan alami protein target. Pada struktur 3D protein target, dilakukan penambahan atom hidrogen (*polar only*). Sedangkan pada struktur 3D ligan, nodus tengah dan *rotatable bonds* dipilih dan disimpan dalam bentuk PDBQT. Pada preparasi gridbox, sisi aktif dipilih mengikuti sisi aktif ligan nativ dari protein dengan penyesuaian dimensi gridbox x, y, dan z 40 x 40 x 40 dengan spasi 0.375 \AA , lalu simpan file dengan bentuk GPF. Proses docking menggunakan Lamarckian Genetic Algorithm (LGA) dan parameter Genetic Algorithm (GA) diatur 100 run dengan ukuran populasi 150, *number*

of evaluations 2.500.000, number of generation 27.000 dengan rate mutasi dan crossover default lalu simpan file dalam bentuk .gpf. Hasil yang diperoleh yakni gridbox x, y, dan z 40 x 40 x 40 dengan spasi 0.375 Å. Berdasarkan hasil pencarian posisi sisi pengikatan pada uji kali ini, AUTODOCK mendeteksi ligan alami berada pada kordinat x: -13.284, y: 2.746, z: -25.24.

3.4.4. Validasi metode penambatan molekuler

Validasi metode molecular docking dilakukan menggunakan aplikasi AutodockTools (Autodock 4.2 dan Autogrid) dengan men-docking-kan kembali (redocking) native ligand pada protein 5m8o yang sudah dihilangkan native ligand-nya. Parameter validasi metode adalah Root Mean Square Deviation (RMSD). RMSD yang dapat diterima adalah $\leq 2,0$ Å (Jain dan Nicholls,2008).

3.4.5. Visualisasi hasil docking

Untuk melihat hubungan antara ligan dan reseptor dapat digunakan BIOVIA Discovery Studio yang mampu memvisualisasikan struktur dalam dua atau tiga dimensi sehingga analisis lebih mudah dilakukan. Langkah awal yang dilakukan buka file protein yang dipreparasi dan file redocking, hasil redocking salin ke protein preparasi, klik reseptor ligan interactions lalu klik redocking model, pilih define ligan <undefined>, show 2D.

3.4.6. Prediksi Sifat Farmakokinetik dan Toksisitas

Prediksi sifat farmakokinetik dibutuhkan untuk mengamati sifat absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi ari senyawa uji dan juga memprediksi toksisitas, guna menilai apakah senyawa uji memiliki potensi toksik atau aman untuk digunakan. Uji ini dapat dilakukan dengan menggunakan web server pkCSM (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/prediction>) dilakukan dengan pengunggahan senyawa dalam bentuk canonical smiles pada kolom input senyawa, selanjutnya pilih menu ADMET yang berada di dalam kotak berwarna hitam untuk memulai prediksi.

3.4.7. Analisa data

Dilakukan analisa data dari nilai prediksi sifat mirip obat, skor *molecular docking*, visualisasi hasil *molecular docking*, dan prediksi ADMET.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Analisis ligan

Sebelum dilakukan *molecular docking*, dilakukan terlebih dahulu prediksi sifat mirip obat untuk memprediksi apakah senyawa-senyawa ujidapat menunjukkan tingkat absorpsi yang baik di dalam tubuh, dan berpotensi sebagai obat peroral dengan mengikuti aturan *Lipinski's rule of five*.

Senyawa yang memenuhi kriteria sifat mirip obat adalah senyawa dengan Bobot Molekul (BM) kurang dari 500, Log *P* kurang dari 5, Hidrogen Bond Donor (HBD) kurang dari 5, Hidrogen Bond Aceptor (HBA) kurang dari 10, dan nilai Molar Refractivity (MR) 40-140 (Rachmania et al., 2015). Hasil dari prediksi sifat mirip obat disajikan dalam tabel 4.1.

Tabel 4.1
Hasil Prediksi Sifat Mirip Obat Senyawa daun dewandaru

Ligan	BM	H donnor	H aseptor	LogP	MR
(6S,9R)-roseoside	386	5	8	-0.57	95.5
Actinidioionosid	406	7	9	-1,5	98.04
α -cadinol	222	1	1	3.77	68.15
b-elemene	204	0	0	4.74	68.76
β -sitosterol	414	1	1	8.02	128.21
Betulnik acid	456	2	3	7.08	132.61
ellagic acid	302	4	8	1.24	68.45
Furanodien	216	0	1	4.35	67.60
Gallic acid	170	4	5	0.50	38.39
Gallokatekin	306	6	7	1.25	74.28

γ-elemene	312	5	6	-0.05	77.14
Germacrone	218	0	1	4.35	69.36
Kurzerene	216	0	1	3.83	66.52
α-L- rhamnopyranosid	178	3	5	-1.5	39.36
mirisetin	318	6	8	1.71	75.71
mirisitrin	464	8	12	0.002	106
quercetin	302	5	7	2.01	74.05
quercitrin	448	7	11	0.29	104.86
sesquiterpenes	264	0	3	2.41	66.72
furanoelemene	216	0	1	3.83	66.52

Berat molekul (BM) merupakan salah satu parameter sifat mirip obat yang diprediksi, dengan kriteria senyawa harus memiliki nilai BM tidak lebih dari 500 Dalton. Pada penelitian kali ini didapatkan hasil semua senyawa- senyawa kimia

Daun dewandaru memiliki nilai BM tidak lebih dari 500Dalton, didapatkan hasil nilai BM tertinggi ada pada senyawa quercitrin yakni dengan nilai BM 448 Dalton, sedangkan nilai BM terendah dimiliki oleh gallic acid dengan nilai BM 170 Dalton. Aturan *Lipinski's rule of five* mengatur berat molekul yang ideal yaitu ketika senyawa memiliki BM tidak lebih dari 500 Dalton, dikarenakan semakin tingginya nilai berat molekul dari suatu senyawa, maka akan mengakibatkan senyawa akan sulit untuk berdifusi menembus kedalam membrane sel (Rachmania et al., 2015).

Selain nilai berat molekul, nilai koefisien partisi $\log P$ juga diprediksi. $\log P$ adalah gambaran lipofilisitas senyawa obat yang mempengaruhi tingkatabsorpsi dalam tubuh. Pada prediksi senyawa-senyawa kimia daun dewandaru didapatkan hasil nilai $\log P$ tidak semua senyawa memenuhi kriteria, yakni nilai $\log P$ senyawa β -sitosterol memiliki nilai $\log P$ 8.02 dan betulinic acid memiliki nilai $\log P$ 7.08. Berdasarkan hasil tersebut β -sitosterol dan betulinic acid tidak memenuhi syarat $\log P$, sehingga dapat dikatakan ke dua senyawa tersebut tidak dapat melwati membrane lipid bilayer, karena,

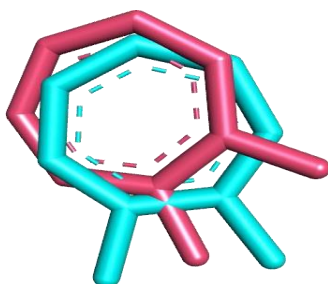
semakin besar nilai $\log P$, maka semakin hidrofobik molekul tersebut. Molekul yang memiliki sifat terlalu hidrofobik cenderung memiliki tingkat toksisitas yang besar karena akan tertahan lebih lama pada lipid bilayer dan terdistribusi lebih luas di dalam tubuh sehingga selektivitas ikatan menjadi berkurang terhadap enzim target (Rachmania et al., 2015).

Jumlah donor dan akseptor ikatan hidrogen juga diprediksi untuk menentukan sifat mirip obat dari suatu senyawa. Menurut aturan *Lipinski's rule of five* jumlah donor ikatan hidrogen tidak lebih dari 5, dan jumlah akseptor tidak lebih dari 10 karena karena banyaknya jumlah serah terima hidrogen akan semakin tinggi energi yang dibutuhkan supaya proses absorpsi. Pada penelitian terhadap senyawa-senyawa kimia daun dewandaru dihasilkan tidak sesuai dengan syarat 5 hukum Lipinski yakni mirisitrin menghasilkan hidrogen bond donor 8 dan hidrogen bond acceptor 12, quercitrin hydrogen bond donor 7, hydrogen bond acceptor 12, myricetin hydrogen bond 6, gallocthecine hydrogen bond 6, antinidionosid hydrogen bond 7.

Kepolaran senyawa juga diprediksi dalam aturan *Lipinski's rule of five*, yakni dengan memprediksi Molar refractivity (MR) yang menyatakan ukuran nilai total polarisabilitas dari molekul senyawa. Nilai parameter yang baik menurut menurut yaitu berkisar antara 40-140, Dari hasil penelitian didapatkan bahwa semua senyawa memenuhi kriteria molar refractivity. Semakin besar nilai Molar Refractivity maka permeabilitas senyawanya juga semakin baik (Alfathin et al., 2021).

Selain itu, suatu senyawa dikatakan memiliki permeabilitas tinggi apabila memenuhi 2 kriteria atau lebih dari aturan Lipinski, (Benet dkk., 2016). Berdasarkan prediksi sifat mirip obat diatas, maka dapat disimpulkan bahwa ke dua puluh senyawa-senyawa kimia daun dewandaru dikatakan memenuhi kriteria sifat mirip obat dan berpotensi untuk dikembangkan untuk menjadi obat peroral berdasarkan aturan *Lipinski's rule of five*. Dan dapat dilakukan pengujian secara *in-silico* dengan metode *molecular docking* untuk mendapatkan nilai afinitas sehingga dapat diketahui kekuatan ikatannya terhadap anti-tirosinase.

4.2. Validasi Molecular Docking



Gambar 4.1

Hasil visualisasi overlapping native ligand 5M8O berasal dari co- kristal (pink) dan redocking (hijau muda)

Pada gambar 4.1 terlihat perubahan konformasi ligan setelah dilakukan redocking letaknya tidak terlalu jauh dengan ligan hasil kristalografi. Keduanya tetap berhimpit hanya saja dengan pose yang sedikit berbeda. Perubahan konformasi ini akan mempengaruhi ikatan yang terjadi antara ligan dengan reseptor.

Validasi metode dilakukan sebagai pengujian akurasi metode docking (Chaves et al., 2017). Validitas metode molecular docking dapat dilakukan dengan cara menambatkan kembali (*redocking*) *native ligand* pada protein target menggunakan program AutoDock Tools atau dilihat dari kemiripan antara ligand native sebelum dilakukan docking dan sesudah dilakukan docking seperti pada gambar 4.1 di atas. Hal yang sangat penting dan utama yang harus dilakukan saat validasi metode molecular docking adalah pengaturan grid box. Grid box dibuat untuk menunjukkan ruangan dimana akan terjadi interaksi antara ligan dengan asam amino pada protein target sehingga menghasilkan efek farmakologis (Susanti *et al.*, 2019). Pada penelitian ini digunakan ukuran grid box dan koordinat yang diperoleh saat validasi metode yaitu ukuran 40 x 40 x 40 Å dengan space 0,375 Å serta titik koordinat sebagai berikut $x = -13.284$, $y = 2.764$, $z = -25.24$. Penggunaan ukuran grid box dan koordinat yang sama pada saat validasi dilakukan untuk memastikan bahwa senyawa uji ditambatkan secara tepat pada sisi aktif sesuai dengan hasil validasi.

Parameter validasi dalam molekular docking berupa nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*). Nilai RMSD menunjukkan perbandingan konformasi *Native ligand* hasil *redocking* dengan konformasi *Native ligand* hasil pengukuran kristalografi (Saputri

et al.,2016). Batas nilai RMSD yang dapat diterima adalah $< 2,0$ Amstrong (Yanuar, 2016), nilai tersebut menunjukkan protokol diterimanya metode dan *docking* senyawa uji dapat dilakukan. Nilai RMSD yang diperoleh dari *redocking* menunjukkan bahwa semakin kecil nilai yang didapat, maka posisi ligan hasil *redocking* semakin menyerupai posisi *native ligand co-cristal*.

Nilai validasi metode yang diperoleh berdasarkan proses penambatan molekul *native ligand* terhadap protein kode ID: 5M8O yaitu sebesar $0,81 \text{ \AA}$. Nilai tersebut $\leq 2 \text{ \AA}$ yang artinya letak posisi *native ligand co-cristal* dengan ligan *redocking* tidak terlalu berjauhan dan konformasinya sangat mirip. Nilai RMSD *redocking* tersebut telah memenuhi standar validasi dengan itu metode ini dapat digunakan untuk penambatan molekul senyawa uji lainnya.

4.3. Energi ikatan Bebas (ΔG) dan Konstanta Inhibisi (KI)

Hasil *docking* yang bagus salah satunya dapat dianalisis dengan membandingkan nilai energi binding atau energi ikatan bebas (ΔG) dan Konstanta Inhibisi (KI). Energi binding adalah nilai yang menunjukkan kemampuan ligan berikatan dengan reseptor. Jika semakin besar nilai energi binding ikatan, maka ikatan antara reseptor dengan ligan akan semakin rendah. Semakin kecil nilai energi binding, maka ikatan antara reseptor dengan ligan semakin tinggi. Nilai K_i adalah konsentrasi inhibitor yang dibutuhkan untuk menurunkan setengah dari aktivitas enzim. Semakin kecil nilai K_i , semakin kuat inhibitor tersebut (Liljefors *et al.*, 2002).

Berikut adalah hasil penambatan molekular dari senyawa uji daun dewandar dengan OTR sebagai ligan *native* pada protein ID: 5M8O.

Tabel 4.2
Nilai Energi Ikatan Bebas Dan Konstanta Inhibisi

Ligan	Energi bebas ikatan (kcal/mol)	Konstanta inhibisi (μM)
Native ligandKojic acid	<i>-5.12 kcal/mol</i>	176.09 μ M
	<i>-4,65 kcal/mol</i>	392.12 μ M (micromolar)
(6S,9R)-roseoside	-6.28 kcal/mol	24.79 μ M
actinidioionosid	-7.28 kcal/mol	4.60 μ M
α-cadinol	-6.57 kcal/mol	15.38 μ M
b-elemene	-5.78 kcal/mol	58.08 μ M
β-sitosterol	-6.78 kcal/mol	10.73 μ M
Betulinik acid	<i>-1.29 kcal/mol</i>	113.07 mM
ellagic acid	-5.47 kcal/mol	98.51 μ M
Furanodien	-6.00 kcal/mol	39.73 μ M
Furanoelemene	-6.11 kcal/mol	33.34 μ M
Gallic acid	-4.24 kcal/mol	784.92 μ M
γ-elemene	-6.14 kcal/mol	31.50 μ M
germacrone	-6.50 kcal/mol	17.27 μ M
kurzerene	-6.14 kcal/mol	31.81 μ M
α-L- rhamnopiranosid	-4.61 kcal/mol	414.19 μ M
myricetin	-5.13 kcal/mol	172.28 μ M
myricitrin	-5.31 kcal/mol	128.77 μ M

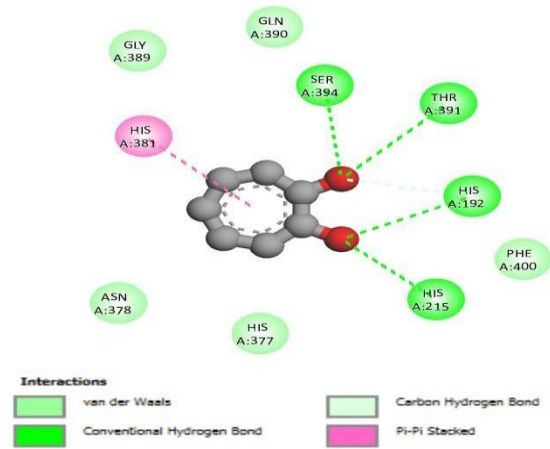
Ligan	Energi bebas ikatan (kcal/mol)	Konstanta inhibisi (μM)
quercetin	-6.02 kcal/mol	38.66 μM
quercitrin	-5.75 kcal/mol	61.41 μM
Sesquiterpene	-6.76 kcal/mol	11.15 μM
Gallocathecin	-5.73 kcal/mol	63.46 μM

Berdasarkan data hasil *docking* pada protein ID: 5M8O pada tabel 4.1 diperoleh nilai energi ikatan bebas (ΔG) paling kuat yaitu actinidioionosid dengan $\Delta G = -7.28$ kcal/mol dan konstanta inhibisinya 4.60 μM (micromolar). Pada senyawa uji diperoleh nilai *docking* paling rendah yaitu senyawa *betulimic acid* sebesar $\Delta G = -1.29$ kcal/mol dan nilai konstanta inhibisi sebesar 113.07 μM (mikromolar). Dari data tersebut senyawa uji *actinidioionosid* memiliki afinitas tertinggi ataumemiliki kekuatan yang lebih besar untuk berikatan pada protein sehingga menghasilkan aktivitas biologis obat berupa penghambatan anti-tirosinase yang lebihkuat.

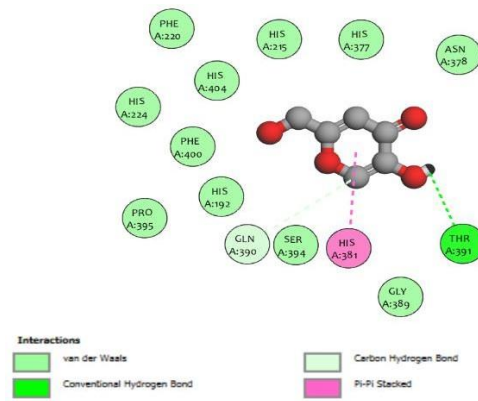
4.4. Visualisasi Hasil Molecular Docking

Visualisasi hasil *molecular docking* antara ligan dengan protein target. Visualisasi bertujuan untuk mengamati residuasam amino yang berinteraksi dan jenis interaksi apa saja yang terjadi antara ligan dengan protein target (Manalu et al., 2021).

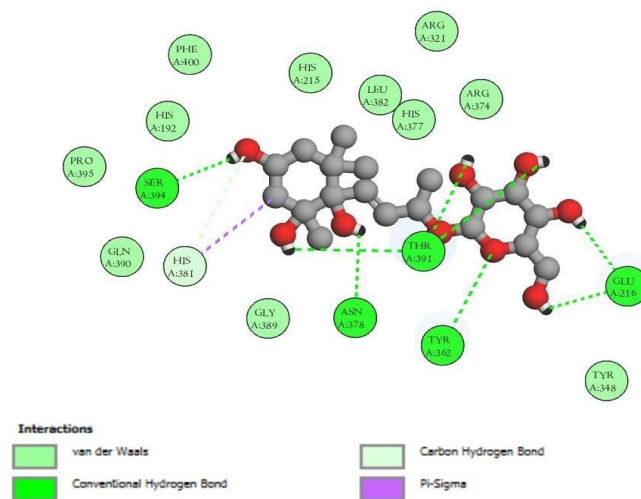
Ikatan hidrofobik, ikatan hidrogen, dan interaksi van der waals adalah jenis interaksi non-kovalen antara molekul yang dapat mempengaruhi proses *molecular docking* antara protein target dan ligan. Dalam proses *molecular docking*, ikatan hidrofobik dapat membantu memperkuat interaksi antara ligand dan protein target yang terdiri dari daerah-daerah hidrofobik, sedangkan ikatan hidrogen dan van der waals dapat membantu mempertahankan posisi ligan dalam protein target dan meningkatkan kestabilan kompleks protein-ligan. Oleh karena itu, mempertimbangkan peran ikatan hidrofobik, ikatan hidrogen, dan interaksi van der Waals dapat membantu meningkatkan akurasi dan efektivitas proses molecular docking(Nadhiefa et al., 2022). Hasil visualisasi disajikan dalam gambar berikut.



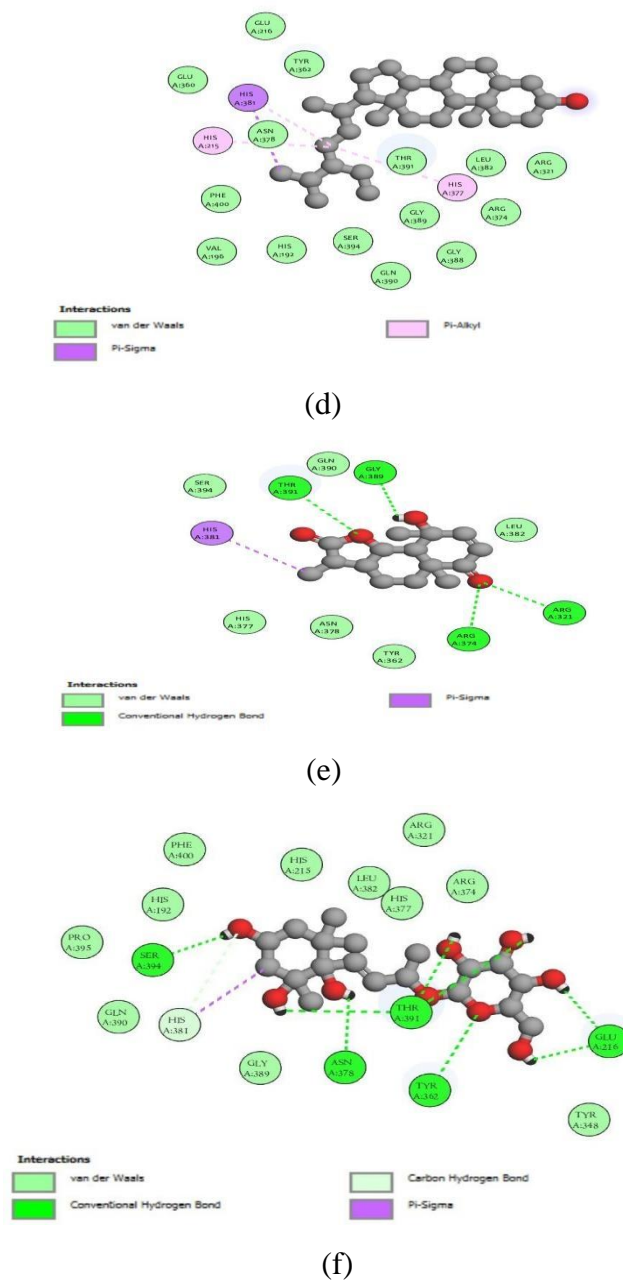
(a)



(b)



(c)



Gambar 4.2

Visualisasi Interaksi antara Reseptor dengan ligand (a) Ligan nativ (b) Senyawa pembanding (c) Actinidioionosid (d) β -sitosterol (e) Seskuiterpen (f) α -cadinol

Tabel 4.3
Hasil Virtual Skrining Senyawa Uji

Ligan Native	Residu Asam Amino
OTR	His215A, His192A, Thr391A, Ser394A, His381A
Ligan Pemanding	Residu Asam Amino
Kojic acid	Thr391A, Gln390A, His381A
Ligan Uji	Residu Asam Amino
Actinidioionosid	Glu216A, Tyr362A, Thr391A, Asn378A, Ser394A
β -sitosterol	His381A, His215A, His377A
Seskuiterpen	Arg374A, Arg321A, Gly389A, Thr391A, His381A
α -cadinol	Gly389A, His381A, His192A, His25A, His377, His224A, Phe400A, His404A

Potensi dari suatu senyawa dalam berikatan dengan suatu protein juga dipengaruhi oleh interaksi yang terjadi antara senyawa uji dengan residu asam amino. Pada **Tabel 4.2** terlihat bahwa ligan native berinteraksi dengan residu amino, ikatan yang terjadi adalah ikatan konvensional hydrogen bond pada HIS215A, HIS192A, THR391A, SER394A dan ikatan pi-pi pada HIS381A.

Visualisasi senyawa pemanding berinteraksi dengan residu asam amino ikatan yang terjadi adalah ikatan konvensional pada THR391A, carbon hydrogen bond pada GLN390A, dan pi-pi pada HIS381A.

Pada senyawa uji actinidioionosid membentuk ikatan konvensional hydrogen bond pada GLU216A, TYR362A, THR391A, ASN378A, SER394A, carbon hydrogen bond pada HIS381A dan pi-pi sigma HIS 381A.

Pada senyawa uji β -sitosterol membentuk ikatan pi-sigma pada HIS381A dan pi-alkyl HIS215, HIS381A, HIS377A.

Pada senyawa seskuiterpen membentuk ikatan konvensional hydrogen bond pada ARG374A, ARG321A, GLY389A, THR391A dan pi-sigma pada HIS381A

Pada senyawa α -cadinol membentuk conventional hydrogen bond pada GLY389A, pi-sigma HIS381A, dan pi-alkyl HIS192A, HIS215A, HIS377A, HIS224A, PHE400A, HIS404A.

Pada pengamatan visualisasi actinidioionosid, β -sitosterol, seskuiterpen, α -cadinol menunjukkan bahwa ke tiga senyawa tersebut sama-sama memiliki interaksi conventional hydrogen bond kecuali β -sitosterol, tetapi bisa dilihat dari ke empat senyawa uji tersebut memiliki ikatan yang tidak dimiliki oleh ligan native dan senyawa pembanding yaitu ikatan pi-sigma, diprediksi ikatan pi-sigma tersebut lah yang membuat affinitas actinidioionosid, β -sitosterol, seskuiterpen, α -cadinol menjadi lebih kuat dari ligan nativmaupun senyawa pembanding.

4.5. Prediksi ADMET

Prediksi ADMET (Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi dan Toksisitas) dilakukan dengan memasukkan kode SMILE dari senyawa Actinidioionosid, β -sitosterol, Seskuiterpen dan α -cadinol pada situs pkCSM online tool. Hasil Uji Prediksi ADMET ditunjukkan pada tabel 4.4 dibawah ini .

Tabel 4.4
Hasil Uji ADMET menggunakan pkCSM

	Kategori Prediksi	Hasil			
		Actinidioionosid	Beta Sitosterol	Seskuiterpen	Alfa Cadinol
A B S O R B S I	Water Solubility (%)	-2.03	-6773	-3.059	-4.073
	CaCO ₂ Permeability (Log P _{pap} in 10 ⁻⁶ cm/s)	0.249	1.201	1.297	1.479
	Intestinal Absorbtion	9.315	94.464	99.051	94.296
	Skin Premeability (Log Kp)	-3.007	-2.783	-3.105	-1.923
	P-glycoprotein Substrate	Yes	No	No	No
	P-glycoprotein I Inhibitor	No	Yes	No	No
	P-glycoprotein II Inhibitor	No	Yes	No	No
D I	VDss (Log L/kg)	-0.298	0.193	0.205	0.42

	Kategori Prediksi	Hasil			
		Actinidioionosid	Beta Sitosterol	Seskuiterpen	Alfa Cadinol
S T R I B U S I	Fraction Unbound (Human)	0.723	0	0.431	0.28
	BBB Permeability (Log BB)	-1.274	0.781	0.347	0.596
	CNS Permeability (Log PS)	-4.145	-1.705	-2.712	2.151
M E T A B O L I S M E	CYP206 Substrate	No	No	No	No
	CYP3A4 Substrate	No	Yes	No	No
	CYP1A2 Inhibitor	No	No	Yes	No
	CYP2C19 Inhibitor	No	No	No	No
	CYP2C9 Inhibitor	No	No	No	No
	CYP2D6 Inhibitor	No	No	No	No
	CYP3A4 Ihibitor	No	No	No	No
E K S K R E S I	Total Clearance (Log mg/kg/hari)	1.352	0.628	0.197	1.085
	Renal OCT2 Substrate	No	No	No	No
T O K S I S I	AMES Toxicity	No	No	No	No
	Max Tolerated Dose (mg/kg/day)	1.299	-0.621	0.285	0.343
	hERG I Inhibitor	No	No	No	No

T A S	Kategori Prediksi	Hasil			
		Actinidioionosid	Beta Sitosterol	Seskuiterpen	Alfa Cadinol
	hERG II Inhibitor	No	Yes	No	No
	Orat Rat Acute Toxicity (LOAEL) (Log mg/kg)	2.195	0.855	1.626	1.427
	Hepatotoxicity	No	No	No	No
	Skin Sensitisation	No	No	No	Yes
	T-Pyriformis Toxicity (Log /ug/L)	0.285	0.43	0.607	1.49
	Minnow Toxicity (Log Mm)	6.19	-1.802	1.359	0.743
	Oral Rat Acute Toxicity (LD50)	2.195	2.552	1.858	1.918

Hasil tabel 4.4 menunjukkan hasil prediksi farmakokinetik dan toksisitas yang ditentukan melalui situs pkCSM, dimana sifat tersebut dapat mempengaruhi tingkat paparan obat ke jaringan, serta pengikatan untuk sampai ditempat kerja dan menimbulkan efek yang diinginkan (Nursanti, 2019). Mekanisme farmakokinetik suatu obat diawali melalui proses absorpsi.

Kelarutan merupakan parameter penting bagi suatu obat dalam mencapai konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghasilkan respon farmakologi. Dalam pkCSM suatu senyawa dengan nilai kelarutan dalam air >-6 menunjukkan kelarutan yang tinggi (Abdullah et al., 2021). Dari hasil tabel diatas, senyawa actinidioionosid, seskuiterpen dan α -cadinol menunjukkan nilai >-6 , maka kedua senyawa tersebut diprediksi mudah larut dalam air.

Prdiksi permeabilitas Caco-2 (*Caco2 cell monolayer permeability*) sering digunakan sebagai model in invitro dari mukosa usus sehingga dapat memprediksi penyerapan obat yang diberikan secara oral. Senyawa dikatakan memiliki permeabilitas Caco-2 yang tinggi jika memiliki nilai prediktif pKCSM > 0.90 (Pires et al., 2015). Dari

hasil prediksi senyawa β -sitosterol, Seskuitерpen dan α -cadinol memiliki permeabilitas Caco-2 yang tinggi.

Pada tabel diatas senyawa β -sitosterol, Seskuitерpen dan α -cadinol memiliki nilai absorpsi yang baik yaitu 94.464 % , 99.051 % dan 94.296% sehingga ketiga senyawa tersebut diprediksi aka diabsorpsi dengan sangat baik di usus, kecuali senyawa actinidioionosid yang hanya memiliki nilai absorpsi hanya 9.315%. Suatu senyawa dikategorikan baik penyerapannya pada usus apabila nilai penyerapannya $>80\%$ dan dikatakan buruk apabila penyerapannya $<30\%$ (Nadhiefa et al., 2022).

Permeabilitas kulit merupakan salah satu faktor penting dalam penyerapan obat, pada senyawa Actinidioionosid, β -sitosterol dan Seskuitерpen didapatkan nilai prediktif permeabilitas kulit berada pada angka -3.007, -2.783 dan -3.105 (log kp), yang berarti senyawa Actinidioionosid, β -sitosterol dan Seskuitерpen memenuhi kriteria permeabilitas kulit sehingga dapat diprediksi bahwa ketiga senyawa ini berpotensi untuk dikembangkan dengan dibuat dalam bentuk sediaan topikal, karena suatu senyawa dikategorikan memiliki permeabilitas kulit yang baik apabila nilai log kp $<-2,5$ (Pires et al., 2015).

P-glikoprotein berfungsi sebagai penghalang biologis dengan mengeluarkan racun dan xenobiotik dari sel (Abdullah et al., 2021). Prediksi penyerapan pada P-glikoprotein ditunjukkan untuk mengetahui senyawa tersebut merupakan substrat atau inhibitor P-glikoprotein. Pada substrat P-glikoprotein ditahap absorpsi terdapat keterangan “yes” yang berarti hanya senyawa Actinidioionosid akan diabsorpsi melalui substrat tersebut. Namun pada inhibitor P-glikoprotein I dan senyawa P-glikoprotein II hanya satu senyawa yang diabsorpsi pada inhibitor tersebut yaitu senyawa β -sitosterol.

Pada tahap distribusi *Steady State of Volume Distribution* (VDss) yaitu parameter yang menghubungkan jumlah total obat dalam tubuh dengan konsentrasi plasma obat pada waktu tertentu. Semakin tinggi nilai VD artinya lebih banyak obat didistribusikan ke jaringan lain, sehingga dosis obat yang lebih tinggi diperlukan untuk mencapai konsentrasi plasma (Nursanti, 2019). Senyawa dikatakan memiliki volume distribusi rendah bila nilai Log VD < -0.15 , dan dikatakan tinggi bila nilai Log VD > 0.45 (Pires et al., 2015). Volume obat yang stabil didistribusikan secara merata ke konsentrasi yang sama dengan plasma. Semakin besar volume distribusi, semakin banyak obat yang didistribusikan di jaringan daripada di plasma. Pada penelitian ini senyawa aktif yang

memiliki volume distribusi yang memenuhi syarat dari urutan tertinggi adalah α -cadinol, Seskuitерpen, β -sitosterol, dan Actinidioionosid.

Permeabilitas obat menembus sawar darah otak (*Blood Brain Barrier*) merupakan parameter yang digunakan untuk membantu dalam mengurangi efek samping, toksisitas atau dapat meningkatkan khasiat obat. Senyawa yang memiliki nilai Log BB > 0.3 dapat dikatakan bahwa senyawa tersebut dapat menembus sawar darah dengan baik, sedangkan jika nilai Log BB < -1 dikatakan tidak dapat terdistribusi dengan baik (Pires et al., 2015). Pada tabel diatas menunjukkan bahwa nilai Log BB α -cadinol, Seskuitерpen dan β -sitosterol $> 0,3$ sehingga dapat diprediksikan ke-tiga senyawa diatas mampu menembus sawar darah otak secara moderat.

CNS Permeability atau permeabilitas Central Nervous Sistem adalah kemampuan suatu senyawa obat guna menembus ssp (Sistem Saraf Pusat). Sama seperti permeabilitas BBB, parameter ini digunakan untuk meningkatkan khasiat obat yang memiliki target pada sistem saraf pusat. Berdasarkan tabel diatas senyawa aktif α -cadinol, Seskuitерpen dan β -sitosterol diprediksi dapat menembus CNS, sedangkan senyawa aktif Actinidioionosid diprediksi tidak dapat menembus CNS. Senyawa dikatakan dapat menembus CNS jika nilai Log PS > -2 , dan tidak dapat menembus CNS jika nilai Log PS < -3 (Pires et al., 2015).

Pada proses farmakokinetik setelah obat melalui fase distribusi obat akan melalui fase metabolisme. Metabolisme merupakan suatu proses kimiawi dimana obat akan diubah di dalam tubuh membentuk suatu metabolitnya. Reaksi ini terjadi karena adanya proses oksidasi yang terjadi dalam tubuh terutama di hati (Hartono et al., 2021). Inhibitor yang berperan dalam proses ini yaitu sitokrom P450. Oleh karena itu penting untuk menilai kemampuan senyawa yang dapat menghambat sitokrom tersebut, dalam hal ini diwakili oleh CYP2D6 dan CYP3A4. Pada tabel diatas hanya senyawa β -sitosterol yang mengaktifkan sitokrom CYP3A4.

Setelah melalui fase metabolisme senyawa obat akan dikeluarkan tubuh melalui proses eksresi. Pada tahap ini aka diprediksi nilai dari *Total Clearance* dan *Renal Organic Cation Transporter (OCT2) Substrate*. *Total Clearance* merupakan kecepatan obat untuk dieksresikan dari tubuh, merupakan kombinasi dari *hepatic clearance* (metabolisme di hati dan empedu) dan *renal clearance* (eksresi melalui ginjal) (Hardjono, 2017). OCT2

substrat merupakan transporter pada ginjal yang berperan penting dalam proses disposisi dan clearance obat-obatan serta senyawa endogen. Pada tabel diatas dapat dilihat bahwa nilai *total clearance* Senyawa Actinidioionosid merupakan senyawa dengan total clearance paling tinggi sehingga paling cepat dieksresikan dari tubuh dan hasil prediksi menilai semua senyawa bukan merupakan substrat OCT2.

Prediksi toksisitas senyawa merupakan parameter penting selain prediksi farmakokinetik. Parameter yang digunakan adalah uji mutagenik AMES, LD50, *Hepatotoxicity*, dan *skin sensitization*. Pada prediksi AMES *toxicity* atau uji mutagenik AMES keempat senyawa baik Actinidioionosid, β -sitosterol, Seskuitерpen, dan α -cadinol tidak menimbulkan hepatoksisitas, sedangkan pada *skin sensitization* terdapat satu senyawa yang menimbulkan toksisitas yaitu α -cadinol.

LD50 merupakan jumlah senyawa yang dapat menyebabkan kematian pada 50% kelompok hewan coba. Dari tabel diatas dapat dilihat untuk senyawa Actinidioionosid memiliki nilai LD50 sebesar 2.195 termasuk kedalam toksisitas kelas 4, β -sitosterol memiliki nilai LD50 sebesar 2.552 termasuk kedalam toksisitas kelas 4, Seskuitерpen memiliki nilai LD50 sebesar 1.858 termasuk kedalam toksisitas kelas 4 dan α -cadinol memiliki nilai LD50 sebesar 1.918 termasuk kedalam toksisitas kelas 4. Dari penjelasan diatas dapat disimpulkan bahwa ke-empat senyawa termasuk ke dalam toksisitas kelas 4 yang menunjukkan toksisitasnya relatif sedang. Semakin tinggi nilai LD50, maka semakin rendah toksisitasnya.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Sebanyak 20 senyawa aktif daun *Eugenia uniflora* L memiliki sifat mirip obat drug likeness) karena telah memenuhi aturan lima lipinski atau Lipinski's Rule of Five
2. Diprediksi selain ikatan hidrogen ikatan pi-sigma tersebut lah yang membuat affinitas actinidioionosid, β -sitosterol, seskuiterpen, α -cadinol menjadi lebih kuat dari ligan nativ maupun senyawa pembandingan.
3. Selain senyawa aktif actinidioionosid, β -sitosterol, seskuiterpen, α -cadinol senyawa lain juga mempunyai energi ikatan bebas yang baik dibandingkan ligan nativ dan senyawa penmbanding.

5.2. Saran

1. Penelitian lanjutan secara *in-vitro* dan *in-vivo* perlu dilakukan untuk memastikan korelasinya terhadap hasil yang diperoleh pada pengujian secara *in-silico*.
2. Baik *in-vitro* maupun *in-vivo* studi yang dilakukan perlu dilakukan analisa hingga pada tingkatan ekspresi gen dan enzim.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, S. S., Putra, P. P., Antasionasti, I., Rundengan, G., Suoth, E. J., Abdullah, R. P. I., & Abdullah, F. (2022). Analisis sifat fisikokimia, farmakokinetik dan toksikologi pada pericarpium pala (*Myristica fragrans*) secara artificial intelligence. *Chemistry Progress*, *14*(2), 81-92.
- Adnyani, K. D., Lestari, L. W. E., Prabowo, H., Siaka, P. A. I. A., & Laksmiani, N. P. L. (2019). Aktivitas dari kuersetin sebagai agen pencerah kulit secara in silico. *Jurnal Kimia (Journal of Chemistry)*, *13*(2), 207-212.
- Adzhani, A., Darusman, F., & Aryani, R. (2022, July). Kajian Efek Radiasi Ultraviolet Terhadap Kulit. In *Bandung Conference Series: Pharmacy* (Vol. 2, No. 2, pp. 106-112).
- Amini, A., Hamdin, C. D., Muliastari, H., & Subaidah, W. A. (2020). Efektivitas formula krim tabir surya berbahan aktif ekstrak etanol biji wali (*Brucea javanica* L. Merr). *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, *10*(1), 50-58.
- Andika, B. T., Rahmawati, D., & Kuncoro, H. (2021, December). Uji Aktivitas Antioksidan dan Formulasi Gel Ekstrak Etanol Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*): Antioxidant Activity Test and Gel Formulation of Lime Leaf Ethanol Extract (*Citrus aurantifolia*). In *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences* (Vol. 14, pp. 25-30).
- Antonio, K.F., Amorim, L.V., Oleivera, J.M., Dias, C.N., Eugenia uniflora L. Essential Oils a Potential Anti-Leishmania Agent: Effects on *Leishmania amazonensis* and Possible Mechanisms of Action. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* Volume 2013, Article ID279726, 10 pages

- Bare, Y., Maulidi, A., Sari, D. R. T., & Tiring, S. S. N. D. (2019). Studi in Silico Prediksi Potensi 6-Gingerol sebagai inhibitor c-Jun N-terminal kinases (JNK). *Jurnal Jejaring Matematika Dan Sains*, 1(2), 59–63.
- Brown. R.G, Burns T. *Lecture Notes Dermatologi*. Jakarta: Erlangga. 2005
- Chaves, O. A., da Silva, V. A., Sant'Anna, C. M. R., Ferreira, A. B., Ribeiro, T. A. N., de Carvalho, M. G., ... & Netto-Ferreira, J. C. (2017). Binding studies of lophirone B with bovine serum albumin (BSA): Combination of spectroscopic and molecular docking techniques. *Journal of Molecular Structure*, 1128, 606-611.
- Chang TS. An updated review of tyrosinase inhibitors. *Int J Mol Sci*. 2009.10: 2440–75
- Charissa, M., Djajadisastra, J., & Elya, B. (2016). Uji aktivitas antioksidan dan penghambatan tirosinase serta uji manfaat gel ekstrak kulit batang taya (*Nuclea subdita*) terhadap kulit. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 98-107.
- Fitzpatrick Skin Type" (PDF). Australian Radiation Protection and Nuclear Safety Agency. Diakses tanggal 30 November 2017.
- Garmus, T. T., Paviani, L. C., & Cabral, F. A. (2013). Extracts from Pitanga Leaves (*Eugenia uniflora* L.) with sequential extraction in fixed bed using supercritical CO₂, ethanol and water as solvents. In *3rd Iberoamerican Conference on Supercritical Fluids Cartagena de Indias (Colombia)*.
- Hasnaa, N. R., & Manalu, R. T. (2022). Molecular Docking of Turmeric Active Compounds (*Curcuma longa* L.) against Main Protease in Covid-19 Disease. *East Asian Journal of Multidisciplinary Research*, 1(3), 353-364.

- Hasrawati, A., Famir, Y., Aztriana, A., & Mursyid, A. M. (2019). Formulasi dan evaluasi salep ekstrak daun Gulma Siam (*Chromolaena odorata* L.) dengan variasi basis salep. *As-Syifaa jurnal farmasi*, 11(01), 55-60.
- Jatmiko, R. A. (2020). Metabolite Profiling dan uji aktivitas Antineuroinflamasi Fraksi N-Heksana daun semanggi (*Marsilea crenata* C Presl.) secara *In Silico* (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).
- Kalangi, S. J. (2013). Histofisiologi kulit. *Jurnal Biomedik: JBM*, 5(3)
- Khaled Ezzedine, MD and others, Expatriates in High–UV Index and Tropical Countries: Sun Exposure and Protection Behavior in 9,416 French Adults, *Journal of Travel Medicine*, Volume 14, Issue 2, 1 March 2007, Pages 85–91
- Klinger, A.F.R.,Oliveira, J.M.G.,Moraes, Amorim, L.V.,Dias, C.N., Andrade, E.H., Carneiro, S.M.,Denise, F.C.,2013. Eugenia uniflora L. Essential Oil as a Potential Anti-Leishmania Agent: Effects on *Leishmania amazonensis* and Possible Mechanisms of Action.Evidence based Complemintari and Alternative Medicine, Volume 2013,10 pages.
- Kusumaningrum, A., Gunam, I. B. W., & Wijaya, I. M. M. (2019). Optimasi suhu dan pH terhadap aktivitas enzim endoglukanase menggunakan response surface methodology (RSM). *Jurnal Rekayasa dan Menejemen Agroindustri*, 7(2), 243-253
- Latifah, F., & Iswari, R. (2013). *Buku Pegangan Ilmu Pengetahuan Kosmetik*. Gramedia Pustaka Utama
- Mamoto, N., Kalangi, S., & Karundeng, R. (2009). Peran Melanokortin pada Melanosit. *Jurnal Biomedik: JBM*, 1(1).

- Masaki, H. (2010). Role of Antioxidants in the Skin : Anti-aging effects. *Journal of Dermatological Science*, 58, 85-90.
- Morris, G., Goodsell, D.S., Pique, M.E., Lindstrom. 2009. Autodock version 4.2:Automated Docking of Flexible Ligand. La Jolla, California, U.S.A
- Mustika, R., Hindun, S., & Auliasari, N. (2020). Potensi Tanaman Sebagai Pencerah Wajah Alami. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 2(4), 558-562.
- Mustika, R., Hindun, S., & Auliasari, N. (2020). Potensi Tanaman Sebagai Pencerah Wajah Alami. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 2(4), 558-562.
- Nugraha, W., Suwartawan, W., Prayoga, A., Laksmiani, L., Putra, P., & Ani, S. (2018). Potensi Brazilein Potensi Brazilein dari Kayu Secang (*Caesalpinia Sappan* L.) sebagai Agen Depigmentasi Kulit secara In Silico. *Jurnal Farmasi Udayana*, 7(1), 1-6.
- Nurhikmah, N. (2021). Hexadecanamide dan Hyphoxanthine sebagai Senyawa Antibiotik Asal Bakteri Endosimbion Cacing Tanah sebagai Alternatif Antibiotik Melalui Uji In Silico. *Borneo Journal of Science and Mathematics Education*, 1(3), 163-171.
- Ogunwande, I. A., Olawore, N. O., Ekundayo, O., Walker, T. M., Schmidt, J. M., & Setzer, W. N. (2005). Studies on the essential oils composition, antibacterial and cytotoxicity of *Eugenia uniflora* L. *International journal of Aromatherapy*, 15(3), 147-152.
- Pires, D. E. V., Blundell, T. L., & Ascher, D. B. (2015). pkCSM: Predicting small-molecule pharmacokinetic and tpirsoxicity properties using graph-based signatures. *Journal of Medicinal Chemistry*, 58(9), 4066–4072.
<https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00104>

- PRAMUDHITA, W. Y. P. A., & Hendriani, R. (2016). Teknik Peningkatan Kelarutan Obat. *Farmaka*, 14(2), 288-297.
- Prasetyo, B. F. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan dan Daya Hambat Enzim Tirosinase Ekstrak Etanol *Azolla filiculoides* Lam. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 8(1), 53-59.
- Purwani, N. N. (2018). Enzim: Aplikasi Di Bidang Kesehatan Sebagai Agen Terapi. *Quantum: Jurnal Inovasi Pendidikan Sains*, 9(2), 168-176
- Rachmania, Rizky A., et al. "Analisis In-silico Senyawa Diterpenoid Lakton Herba Sambiloto (*Andrographis Paniculata* Nees) Pada Reseptor Alpha-glucosidase Sebagai Antidiabetes Tipe II." *Pharmacy: Jurnal Farmasi Indonesia*, vol. 12, no. 02,8 Dec. 2015.
- Rai, I.N., Wijana, G., Sudana, I.P., Wiraatmaja, I.W., Semarajaya, C.G. 2016. Buah-buahan Lokal Bali. *Pelawa Sari*. Denpasar. 57-61.
- Rai, I.N., Wijana, G., Sudana, I.P., Wiraatmaja, I.W., Semarajaya, C.G. 2016. Buah-buahan Lokal Bali. *Pelawa Sari*. Denpasar. 57-61
- Renjana, E. (2020). Dewandaru (*Eugenia uniflora* L.), Buah Legendaris yang Sarat Mitologi Di Pegunungan Kawi. *Warta Kebun Raya*, 18(1), 2-8.
- Rosenia, M.M., Vivian, F.S.,Corea, Ana,C.L., Luisa, P.M.,and Claudia, M.R. 2007. Identification of Impact Aroma Compound in *Eugenia Uniflora* L. (Brazilian Pitanga Leaf Essential Oil). *Journal of Brazilian Chemical Society*. Vol.18.No.1 179– 183.

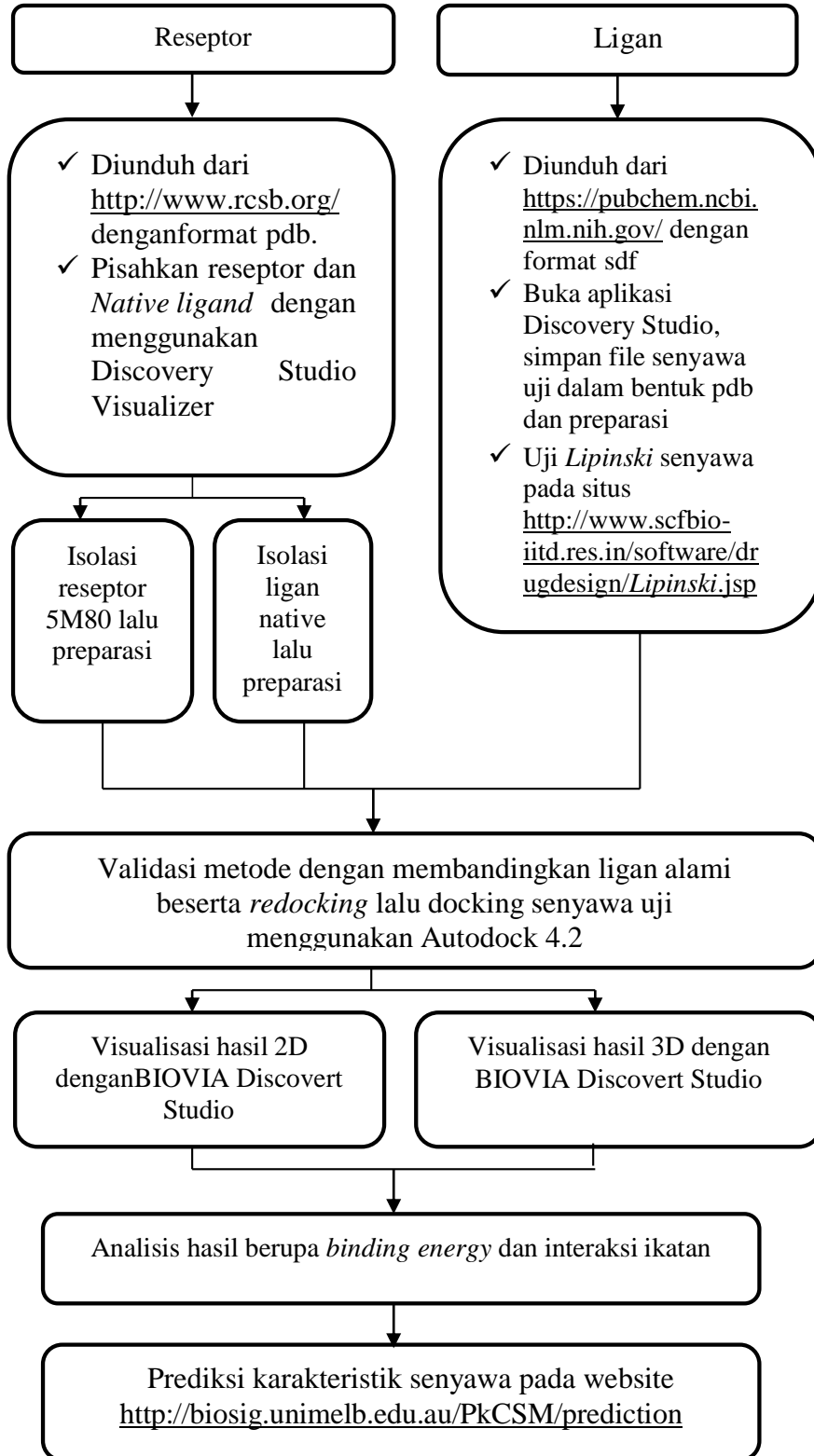
- Rosenia, M.M., Vivian, F.S.,Corea, Ana,C.L., Luisa, P.M.,and Claudia, M.R. 2007. Identification of Impact Aroma Compound in Eugenia Uniflora L. (Brazilian Pitanga Leaf Essential Oil). *Journal of Brazilian Chemical Society*. Vol.18.No.1 179– 183.
- Roshni PR, dkk. *Evaluation and Management of Sunburn*.India: Departement of Pharmacy Practice. 2014
- Rusmiati, L., & Nursa'adah, E. (2016). Isolasi Dan Pemanfaatan Minyak Atsiri Dari Daun Dewandaru (*Eugenia Uniflora L.*) Sebagai Deodoran. *JTK (Jurnal Tadris Kimiya)*, 1(1), 14-19.
- Sagala, Z., Pratiwi, R. W., Azmi, N. U., & Maap. (2019). Uji Aktivitas Inhibisi terhadap Enzim Tirosinase dari Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya L.*) Secara In Vitro. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, 7(2), 34–38.
- Samy, M.N., Sugimoto, S., Matsunami, K., Otsuka, H., Kamel, M.S. 2014. Bioactive compounds from the leaves of *Eugenia uniflora*. *J Nat Prod*, 7:37-47.
- Santos, R.M., Fortes, G.A., Ferri, P.H., Santos, S.C. 2011. Influence of foliar nutrients on phenol levels in leaves of *Eugenia uniflora*. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 21(4):581-586.
- Santoso, P., Dewi, N.L.K.A.A. &Adrianta, A. 2020. Antioxidant capacity profile of dewandaru leaf (extract *eugenia uniflora*L.): part of usadha Bali.*International journal of life sciences*, 4(1):87–98. DOI: 10.29332/ijls.v4n1.407
- Schmeda-Hirschmann, G., C. Theoduloz, L. Franco, E. Ferro and A. Rojas De Arias, 1987, Preliminary pharmacological studies on *Eugenia uniflora* leaves: xanthine oxi-dase inhibitory activity, *Journal of Ethnopharmacology* 21:183-186.

- Shofi, M. (2021). Studi In Silico Senyawa Kuarsetin Daun Kencana Ungu (*Ruellia tuberosa* L.) Sebagai Agen Antikanker Payudara. *Jurnal Sintesis: Penelitian Sains, Terapan dan Analisisnya*, 2(1), 1-9.
- Siregar, E. R. D. (2020). Studi Literatur Analisis Hidrokuinon Pada Krim Pemutih Wajah Yang Dijual Di Pasaran Dan Krim Pemutih Dari Dokter.
- Soyata, A., & Chaerunisaa, A. Y. (2021). Whitening Agent: Mekanisme, Sumber dari Alam dan Teknologi Formulasinya. *Majalah Farmasetika*, 6(2), 169-186.
- Sri, W. (2017). Biokimia Enzim dan Karbohidrat.
- Suharna, S. (2012). Studi in silico senyawa turunan flavonoid terhadap penghambatan enzim tirosinase. *Skripsi. Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alauddin. Makassar*.
- Suryani, A. (2020). Faktor-Faktor yang Memengaruhi Pigmentasi Manusia. *Cermin Dunia Kedokteran*, 47(9), 682-685
- Tábata. T. Garmus, L.C. Paviani, F. A. Cabral. 2013. Extracts from pitanga leaves (*eugenia uniflora* l.) with sequential extraction in fixed bed using, supercritical co₂ethanol and water as solvents, Iberoamerican Conference.
- Tanaman *E. uniflora* tersebar luas di Negara-negara Amerika Selatan terutama Brazil, Argentina, Uruguay dan Paraguay (Consolini & Marisol, 2002).
- Ikatan enzim dijelaskan oleh model *Lock and Key* dan *induced-fit model*. Prinsipikatan enzim dan susbtrat dijelaskan sebagai berikut (Wahyuni, 2017).
- Xie, X. Q. S. (2010). Exploiting PubChem for virtual screening. *Expert opinion on drug discovery*, 5(12), 1205-1220.

2013. The Plant List, A Working List of All Plant Species. *Trichomanes javanicum* Blume. <http://www.theplantlist.org/tp11.1/record/tro-26620732>. Diakses tanggal 8 November 2014.

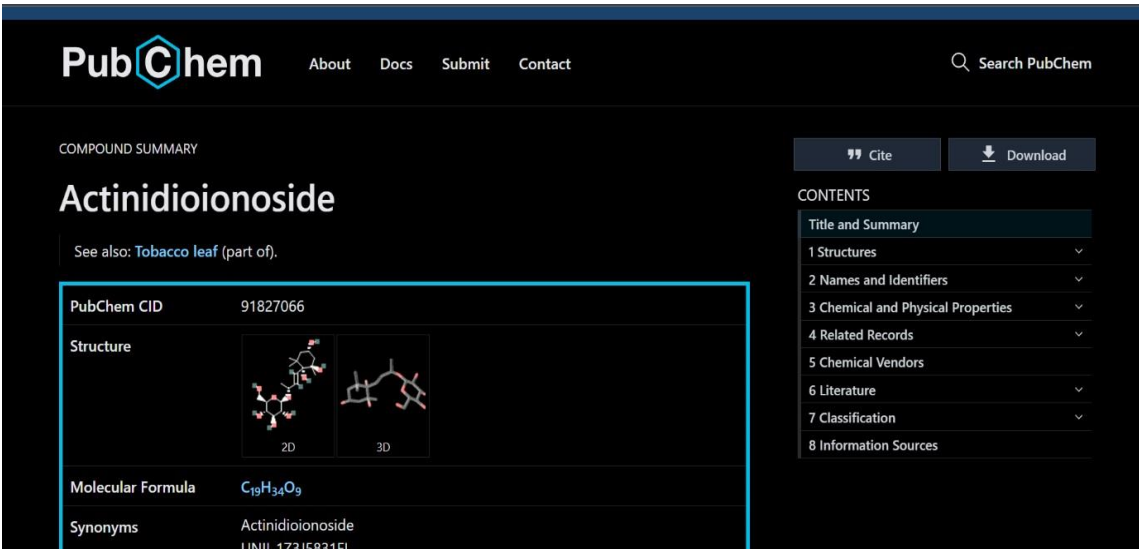
LAMPIRAN

Lampiran 1 Alur Penelitian



Lampiran 2 Preparasi dan Skrining Ligand

1. aktif dari daun Dewandaru.



PubChem

About Docs Submit Contact

Search PubChem

COMPOUND SUMMARY

Actinidioionoside

See also: [Tobacco leaf \(part of\)](#).

PubChem CID 91827066

Structure

2D 3D

Molecular Formula $C_{19}H_{34}O_9$

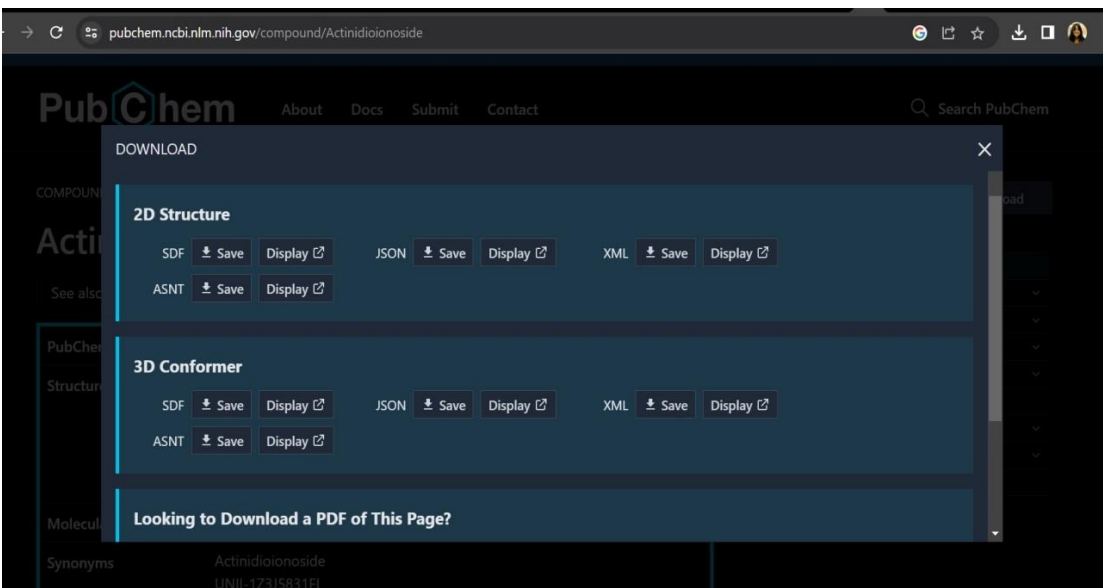
Synonyms Actinidioionoside
UNII-17315831F1

Cite Download

CONTENTS

- Title and Summary
- 1 Structures
- 2 Names and Identifiers
- 3 Chemical and Physical Properties
- 4 Related Records
- 5 Chemical Vendors
- 6 Literature
- 7 Classification
- 8 Information Sources

2. klik download pilih 3D conformer dengan format SDF lalu saat disimpan dalam folder ganti format menjadi pdb



pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Actinidioionoside

PubChem

About Docs Submit Contact

Search PubChem

DOWNLOAD

2D Structure

SDF Save Display JSON Save Display XML Save Display

ASNT Save Display

3D Conformer

SDF Save Display JSON Save Display XML Save Display

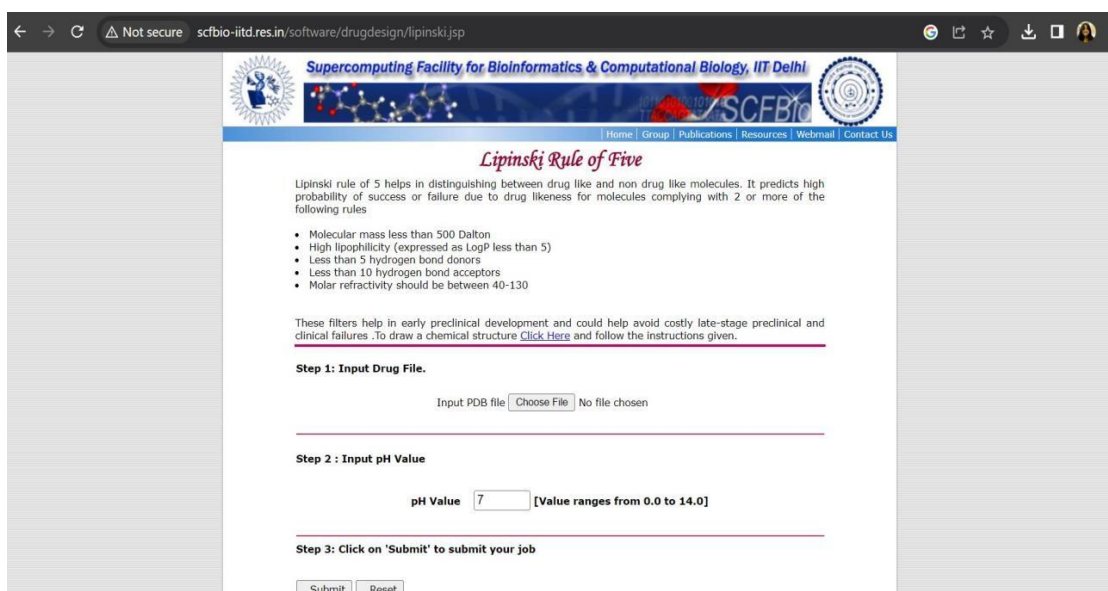
ASNT Save Display

Looking to Download a PDF of This Page?

Actinidioionoside
UNII-17315831F1

(Lanjutan Lampiran 2)

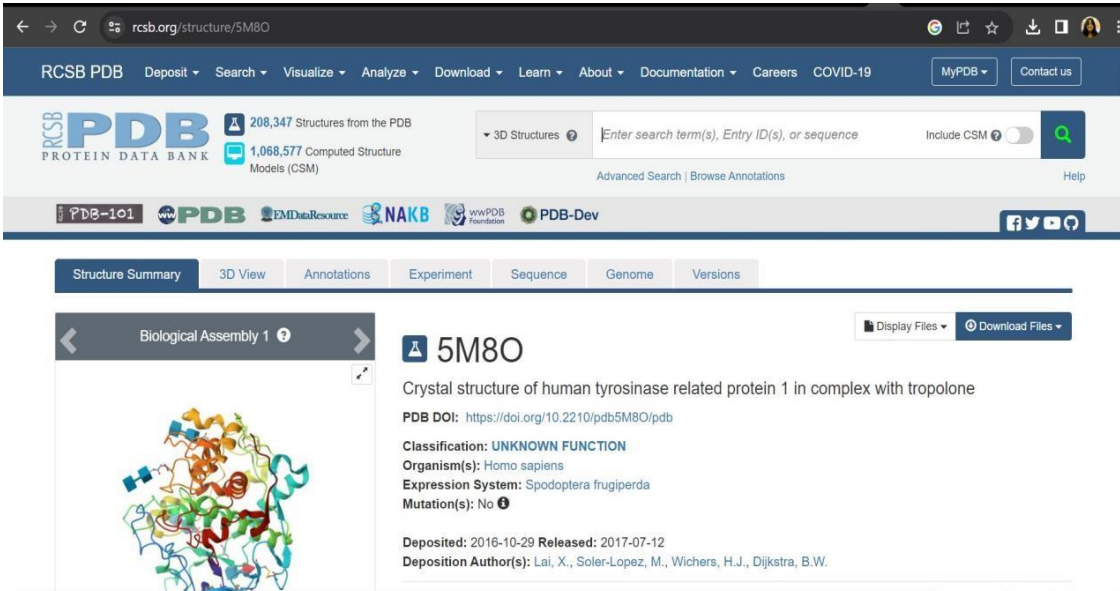
3. Buka laman Lipinski Rule of Five (<https://www.scfbioitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp>), masukan struktur senyawa dalam format pdb yang telah kita simpan



The screenshot shows a web browser window with the URL `scfbio-itd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp`. The page header includes the logo of the Supercomputing Facility for Bioinformatics & Computational Biology, IIT Delhi, and navigation links for Home, Group, Publications, Resources, Webmail, and Contact Us. The main content area is titled "Lipinski Rule of Five" and explains that the rule helps distinguish between drug-like and non-drug-like molecules. It lists five rules: molecular mass less than 500 Dalton, high lipophilicity (LogP less than 5), less than 5 hydrogen bond donors, less than 10 hydrogen bond acceptors, and molar refractivity between 40-130. Below the text, there are three steps for using the tool: Step 1: Input Drug File, with a file selection button labeled "Choose File" and "No file chosen"; Step 2: Input pH Value, with a text input field containing "7" and a note "[Value ranges from 0.0 to 14.0]"; and Step 3: Click on 'Submit' to submit your job, with "Submit" and "Reset" buttons.

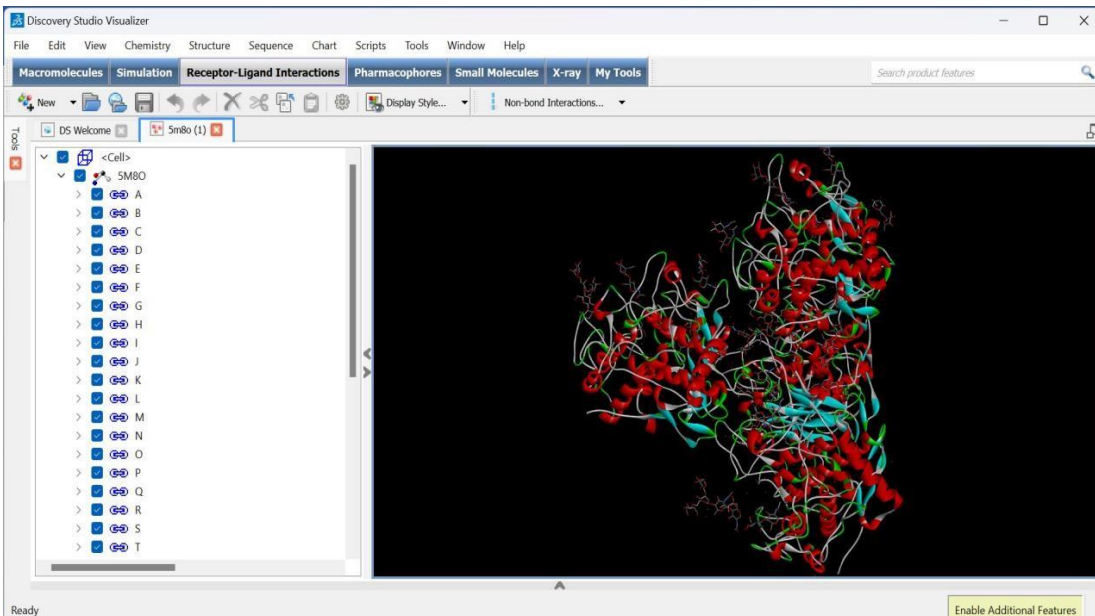
Lampiran 3 Preparasi Protein 5M8O

1. Buka laman web RCSB PDB (<https://www.rcsb.org/>) cari struktur protein 5M8O, unduh dalam format .pdb.



The screenshot shows the RCSB PDB website interface. The main navigation bar includes 'RCSB PDB', 'Deposit', 'Search', 'Visualize', 'Analyze', 'Download', 'Learn', 'About', 'Documentation', 'Careers', and 'COVID-19'. The search bar contains '3D Structures' and a search input field with the placeholder 'Enter search term(s), Entry ID(s), or sequence'. The main content area displays the entry for '5M8O', titled 'Crystal structure of human tyrosinase related protein 1 in complex with tropolone'. The entry details include: PDB DOI: <https://doi.org/10.2210/pdb5M8O/pdb>, Classification: UNKNOWN FUNCTION, Organism(s): Homo sapiens, Expression System: Spodoptera frugiperda, Mutation(s): No, Deposited: 2016-10-29, Released: 2017-07-12, and Deposition Author(s): Lai, X., Soler-Lopez, M., Wichers, H.J., Dijkstra, B.W. The left sidebar shows 'Biological Assembly 1' with a 3D ribbon model of the protein structure.

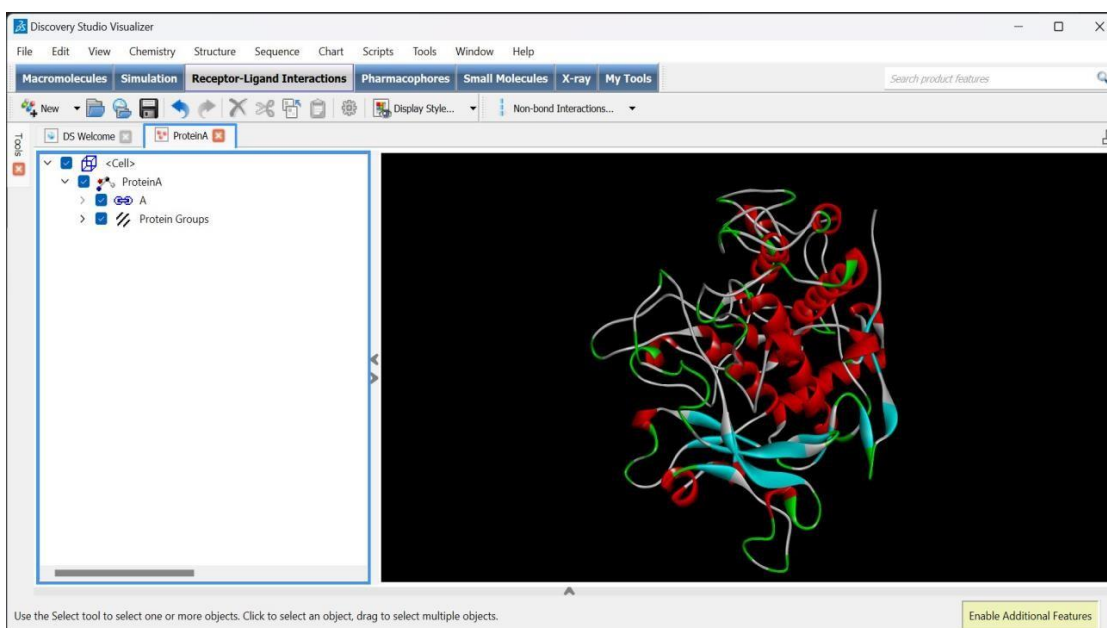
2. Buka protein (PDB) yang sudah di unduh buka di BIOVIA Discovery Studio



The screenshot shows the BIOVIA Discovery Studio Visualizer software interface. The main window displays the protein structure 5M8O, which is a dimeric protein complex. The structure is shown in a ribbon representation with red and cyan colors. The left sidebar shows the 'Tools' panel with a tree view of the loaded structure, including 'Cell', '5M8O', and subunits A through T. The top menu bar includes 'File', 'Edit', 'View', 'Chemistry', 'Structure', 'Sequence', 'Chart', 'Scripts', 'Tools', 'Window', and 'Help'. The top toolbar includes 'New', 'Open', 'Save', 'Print', 'Copy', 'Paste', 'Delete', 'Display Style...', and 'Non-bond Interactions...'. The status bar at the bottom indicates 'Ready' and 'Enable Additional Features'.

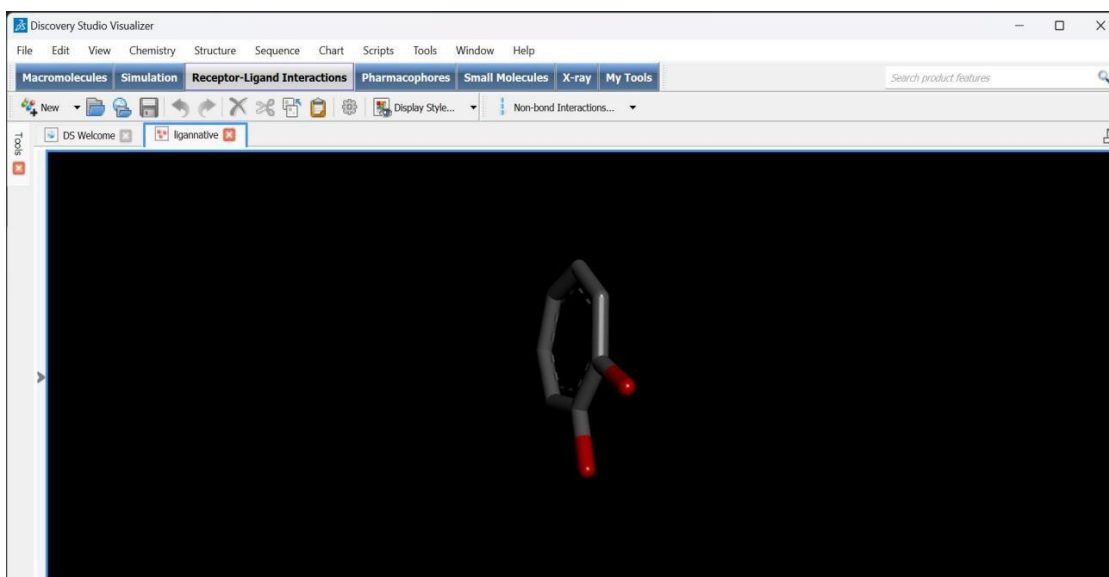
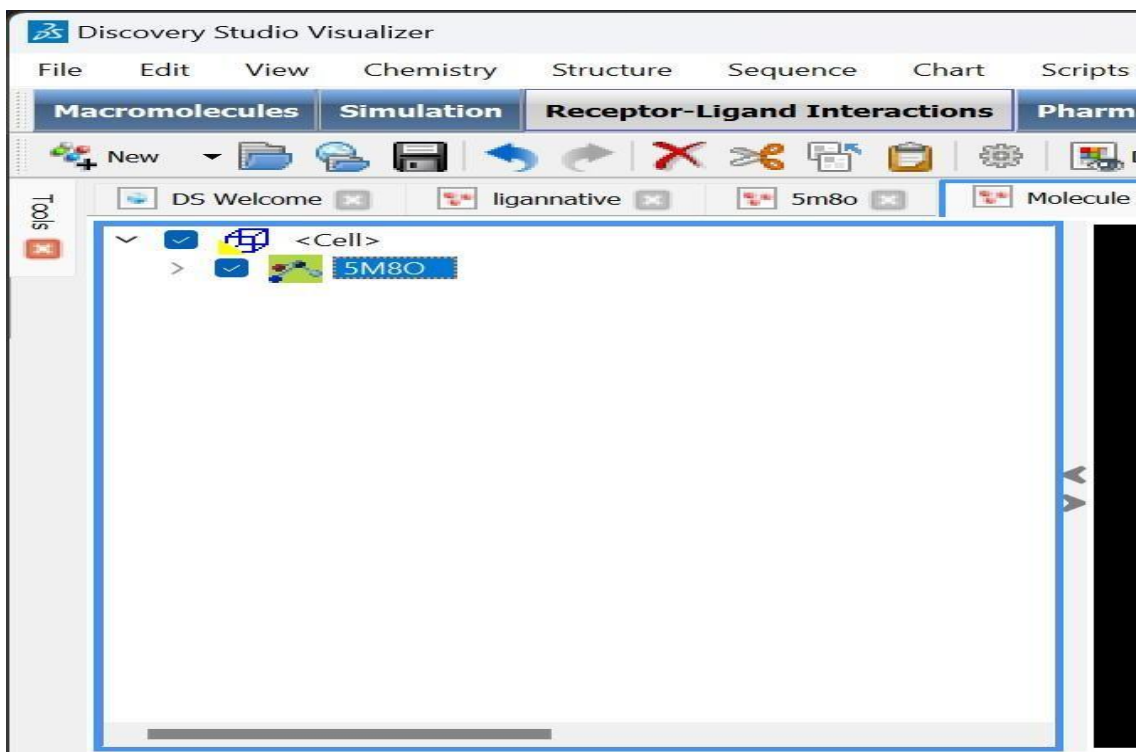
(Lanjutan Lampiran 3)

3. Hapus molekul yang tidak diperlukan yaitu klik ligan grup > delete, water > delete, heteroatom > delete tambahan kan hidrogen edit > hydrogen add lalu simpan dengan format .pdb



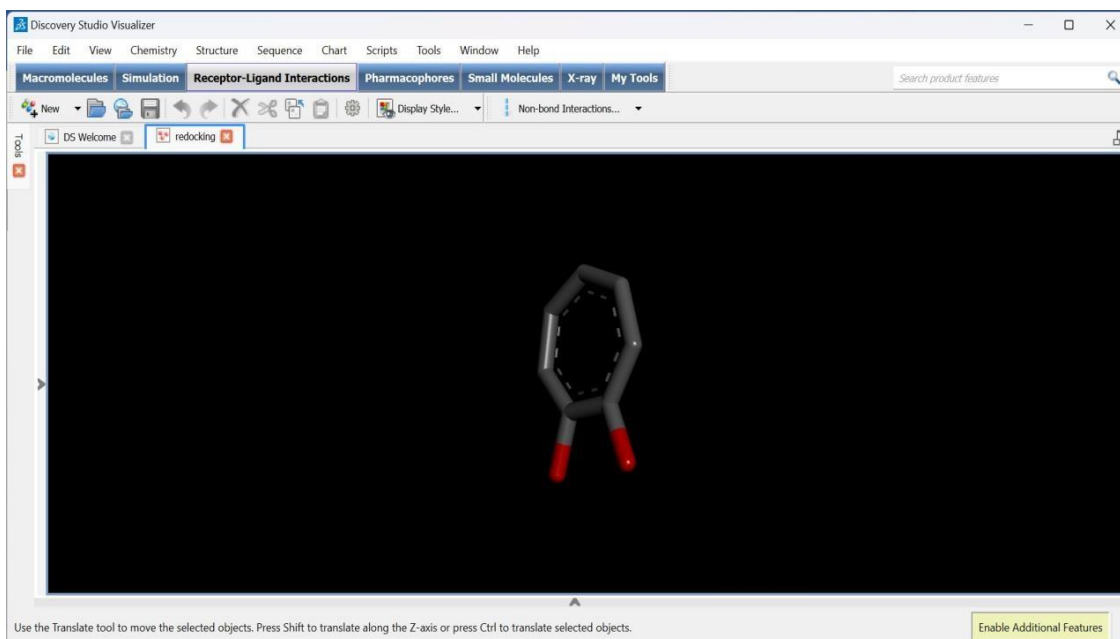
Lampiran 4 Preparasi Ligan

1. BIOVIA Discovery Studio. Seleksi ligan di kolom ligan grup (hasil ligan22) lalu simpan dengan format .pdb.

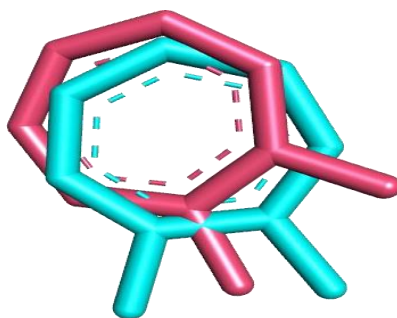


Lampiran 5 Validasi molekular docking

1. Copy file dari MODEL sampai ENDMDL pastek di laman baru lalu simpan dengan fommat .pdb.

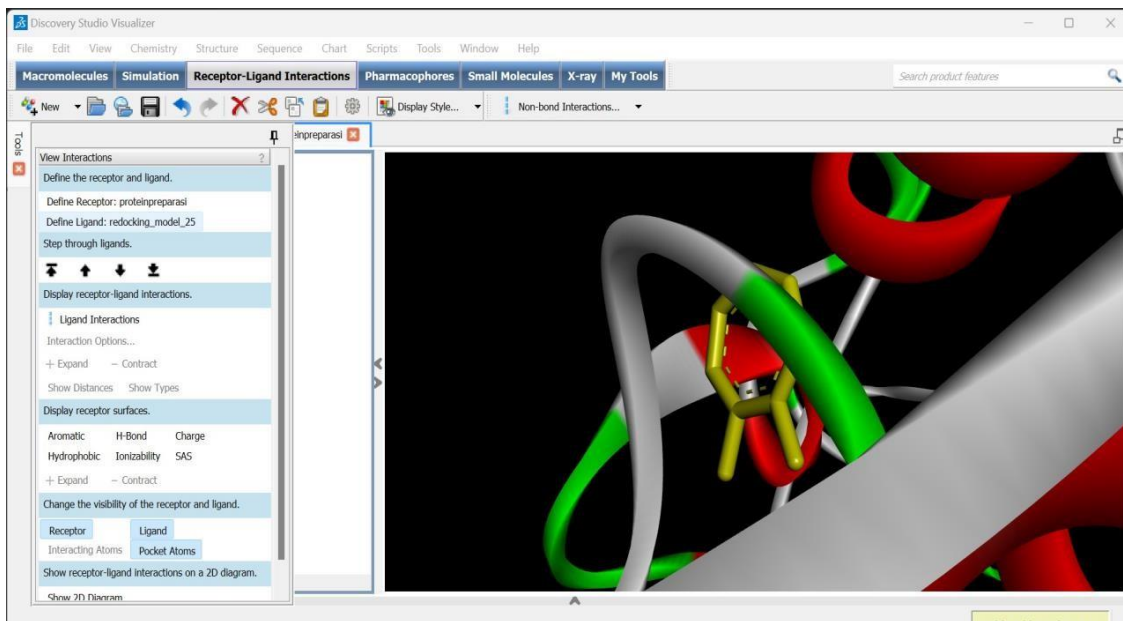


2. Buka file redocking terlihat konformasi terbaiknya, bandingkan dengan ligan native sebelum di docking caranya copy file redocking paste di file ligan native, bedakan warna dengan cara view > color > ganti warna kontras > scripts > visualization > publication quality

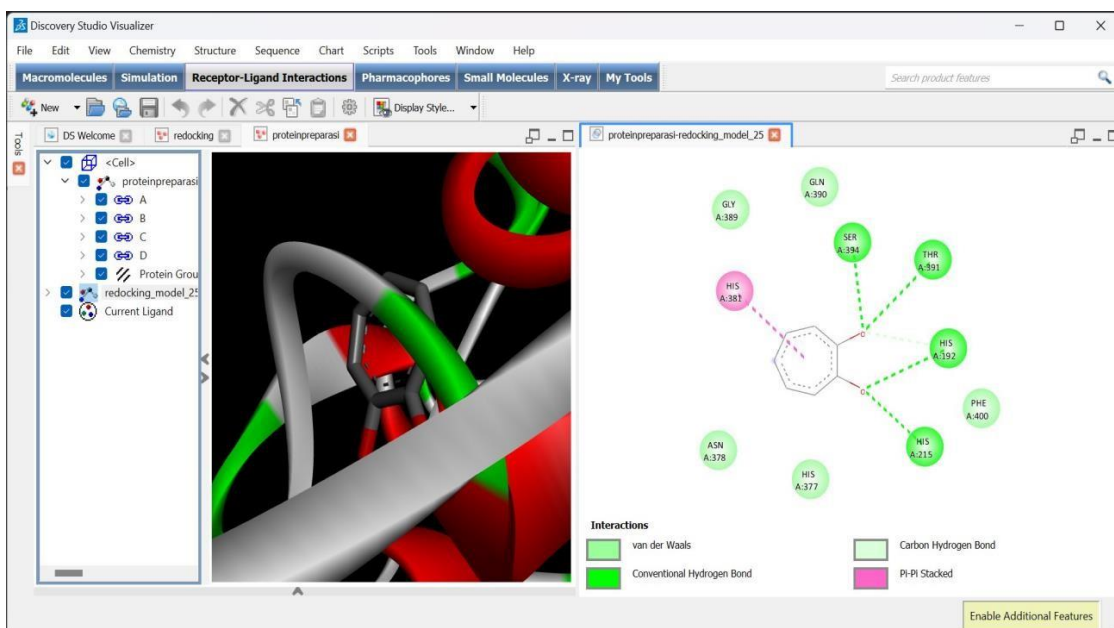


Lampiran 6 Analisis Interaksi Senyawa

1. Buka file protein yang sudah dipreparasi lalu buka file redocking, file redocking pastekan di file protein preparasi > klik reseptor ligand interaction > klik define ligan <underfined>

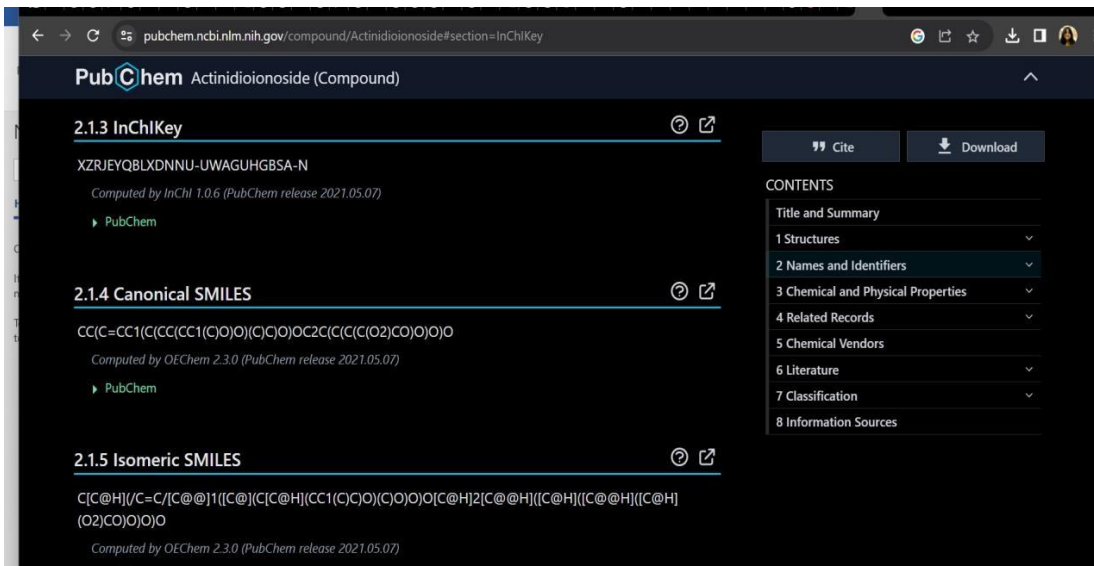


2. Lihat interaksi 2D dengan cara di Reseptor Ligand Interaction klik show 2D diagram



Lampiran 7 Uji Prediksi ADMET

1. Salin kode CANONICAL SMILE dari senyawa uji pada laman situs PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)



The screenshot displays the PubChem page for Actinidioionoside. The page is titled "PubChem Actinidioionoside (Compound)". It features three main sections for chemical identifiers:

- 2.1.3 InChIKey**: XZRJEYQBLXDNNU-UWAGUHGBSA-N. Computed by InChI 1.0.6 (PubChem release 2021.05.07). A link to PubChem is provided.
- 2.1.4 Canonical SMILES**: CC(C=CC1(C(CC(CC1(C)O)O)(C)C)O)OC2C(C(C(O2)CO)O)O. Computed by OEChem 2.3.0 (PubChem release 2021.05.07). A link to PubChem is provided.
- 2.1.5 Isomeric SMILES**: C[C@H](/C=C/C[C@@]1([C@](C[C@H](CC1(C)C)O)O)O[C@H]2[C@@H]([C@H]([C@@H]([C@H](O2)CO)O)O)O. Computed by OEChem 2.3.0 (PubChem release 2021.05.07). A link to PubChem is provided.

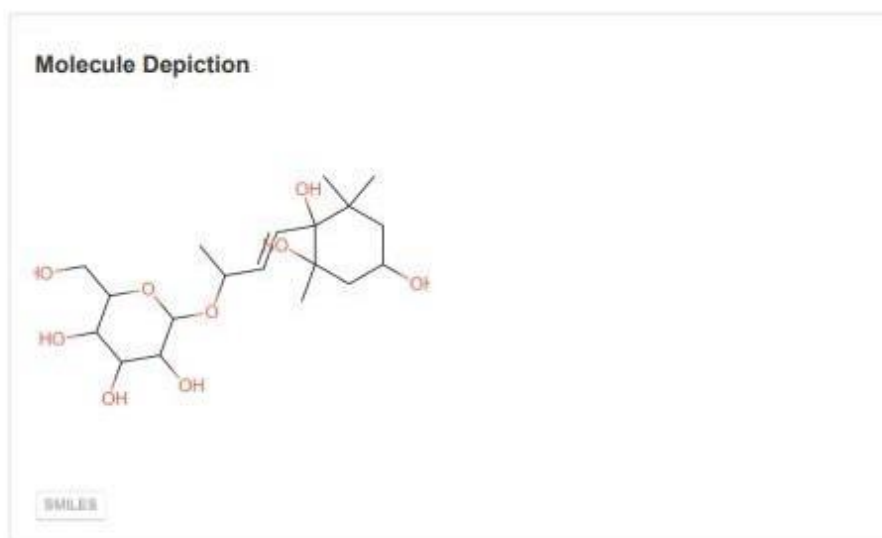
On the right side, there are buttons for "Cite" and "Download", and a "CONTENTS" menu with the following items:

- Title and Summary
- 1 Structures
- 2 Names and Identifiers
- 3 Chemical and Physical Properties
- 4 Related Records
- 5 Chemical Vendors
- 6 Literature
- 7 Classification
- 8 Information Sources

(Lanjutan Lampiran 7)

2. Buka situs web pkCSM (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/predictio>) , masukan kode SMILE klik ADMET dan tunggu hasil prediksi

Pharmacokinetic Properties



Molecule properties:

Descriptor	Value
Molecular Weight	406.472
LogP	-1.5894
#Rotatable Bonds	5
#Acceptors	9
#Donors	7
Surface Area	164.394

Property	Model Name	Predicted Value	Unit
Absorption	Water solubility	-2.03	Numeric (log mol/L)

https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsm/prediction_single/adme_1689411141.5

1/3



**YAYASAN PERGURUANCIKINI
INSTITUTSAINSDAN TEKNOLOGINASIONAL**

Jl. Moh. Kahfi II, Bhumi Srengseng Indah, Jagakarsa, Jakarta Selatan 12640 Telp.(021) 727 0090, 787 4645, 787 4647
Fax. (021) 786 6955, <http://WWW.istn.ac.id> E-mail:rektorat@istn.ac.id

LEMBAR PENILAIAN SEMINAR HASIL TUGAS AKHIR

Nama mahasiswa : **Desy Nelsari**

No. Pokok : **16334046**

Bidang Tugas Akhir : **A**

Judul Tugas Akhir : **“Studi In silico Daun Dewandaru (Eugenia uniflora L.) Sebagai Antitirosinase “**

NO	MATERI PENILAIAN	NILAI	BOBOT	N X B
1	Perencanaan Penelitian / Proposal (Protokol).	80	10 %	8
2	Pelaksanaan Penelitian.	85	30 %	25,5
3	Penulisan Hasil Tugas Akhir.	80	30 %	24
4	Penguasaan IPTEK	80	30 %	24
	Total		100 %	81,5

Jakarta, 24 Agustus 2023.

(Dr. apt. Subaryanti, M.Si)

Dosen Pembimbing



**YAYASAN PERGURUANCIKINI
INSTITUTSAINSDAN TEKNOLOGINASIONAL**

Jl. Moh. Kahfi II, Bhumi Srengseng Indah, Jagakarsa, Jakarta Selatan 12640 Telp.(021) 727 0090, 787 4645, 787 4647
Fax. (021) 786 6955, <http://WWW.istn.ac.id> E-mail:rektorat@istn.ac.id



YAYASAN PERGURUAN CIKINI
INSTITUT SAINS DAN TEKNOLOGI NASIONAL

Jl. Moh. Kahfi II, Bhumi Srengseng Indah, Jagakarsa, Jakarta Selatan 12640 Telp. (021) 727 0090, 787 4645, 787 4647 Fax. (021) 786 6955
<http://www.istn.ac.id> E-mail: rektorat@istn.ac.id

SURAT PENUGASAN TENAGA PENDIDIK
Nomor : 193/03.1-H/III/2023
SEMESTER GENAP TAHUN AKADEMIK 2022/2023

Nama	: Dra. apt. Subaryanti, M.Si.	Status	: Tetap.			
Nik	: 01.92867	Program Sarjana Prodi Farmasi				
Jabatan Akademik	: Lektor					
Untuk melaksanakan tugas sebagai berikut:						
Bidang	Perincian Kegiatan	Tempat	Jam/ Minggu	Kredit (SKS)	Keterangan	
I PENDIDIKAN DAN PENGAJARAN	MENGAJAR DI KELAS (KULIAH/RESPONSI DAN LABORATORIUM)					
	Farmakognosi 1 (A)	Ruang HC-5		1	Jumat, 08:00-09:40	
	Farmakognosi 1 (D)	Ruang HC-9		1	Jumat, 15:00-16:40	
	Fitokimia 2 (A)	Ruang HC-8		1	Selasa, 08:00-09:40	
	Fitokimia 2 (B)	Ruang HC-8		1	Selasa, 10:00-14:40	
	Produk Alami(A) (B)	Ruang HC-10		1	Senin, 10:00-14:40	
	Praktikum Fitokimia (A)	Laboratorium		1	Jumat, 08:00-11:00	
	Bimbingan Skripsi			3 Jam/Minggu	1	
	Menguji Tugas Akhir/ Komprehensif			3 Jam/Minggu	1	
	Kepala Program Studi (struktural)			9 Jam/Minggu	3	
II PENELITIAN	Penulisan Karya Ilmiah		3 Jam/Minggu	1		
III PENGABDIAN DAN MASYARAKAT	Pelatihan dan Penyuluhan		3 Jam/Minggu	1		
IV UNSUR UNSUR PENUNJANG	Pertemuan Ilmiah		3 Jam/Minggu	1		
Jumlah Total				14		
Kepada yang bersangkutan akan diberikan gaji/honorarium sesuai dengan peraturan penggajian yang berlaku di Institut Sains dan Teknologi Nasional Penugasan ini berlaku dari tanggal 01 Maret 2023 sampai dengan tanggal 31 Agustus 2023						
Tembusan : 1. Direktur Akademik - ISTN 2. Direktur Non Akademik - ISTN 3. Ka. Biro Sumber Daya Manusia - ISTN 4. Kepala Program Studi Farmasi Fak. Farmasi 5. Arsip						
 Jakarta, 01 Maret 2023 Dekan (Dr. apt. Refdanta, M.Si)						

DAFTAR PESERTA UJIAN SIDANG SEMINAR TUGAS AKHIR (TA)
PERIODE SEMESTER GENAP TAHUN AKADEMIK 2022/2023
PROGRAM STUDI FARMASI FAKULTAS FARMASI - ISTN JAKARTA

Hari/Tanggal Kamis 24 Agustus 2023
Room / Bidang 1 (Satu) / A
Pimpinan Sidang apt. Erwi Putri Setyaningsih, M.Si
Admin Ruangan Putri Andira, S.Si

No.	Nama Lengkap	NIM	Judul SKRIPSI	Dosen Pembimbing	Dosen Penguji	Waktu Ujian
1	Mega Rosalina	21334734	Uji Daya Hambat Antifungi Minyak atsiri Rimpang Kencur aksesori pacitan terhadap Trichophyton rubrum L.	Dr. apt. Subaryanti, M. Si Saiful Bahri, M. Si	apt. Herdini, M.Si Ika Maruya Kusuma, M.Si apt. Erwi Putri Setyaningsih, M.Si	08.00-09.00
2	Sondang Maida Sianturi	21334705	UJI ANTHELMINTIK EKSTRAK ETANOL RIMPANG KENCUR (Kaempferia galanga L.) AKSESORI PACITAN TERHADAP CACING (Ascaridia galli) SECARA IN VITRO	Dr. apt. Subaryanti, M. Si apt. Erwi Putri Setyaningsih, M.Si	apt. Herdini, M.Si Ika Maruya Kusuma, M.Si Saiful Bahri, M.Si	09.00-10.00
3	Anggun Nopalin	19330092	Identifikasi Pigmen Klorofil dan Senyawa Fitokimia Alga Epifitik Pada Pohon Flamboyan (Delonix regia (Hook) Raf.) di Kampus Universitas Indonesia, Depok	Dr. apt. Subaryanti, M. Si Dr. Dian Hendrayanti, M. Sc.	apt. Herdini, M.Si apt. Erwi Putri Setyaningsih, M.Si Saiful Bahri, M.Si	10.00-11.00
4	Nurvita Aini	19330090	Identifikasi Pigmen Klorofil dan Senyawa Fitokimia Alga Epifitik Pada Pohon Kerai Payung (Filicium decipiens (Wight & Arn) Thwaites) di Kampus Universitas Indonesia,	Dr. apt. Subaryanti, M. Si Dr. Dian Hendrayanti, M. Sc.	apt. Herdini, M.Si apt. Erwi Putri Setyaningsih, M.Si Saiful Bahri, M.Si	11.00-12.00
5	Desy Nelsari	16334046	Studi In silico Daun Dewandaru (Eugenia uniflora L.) Sebagai Antitirosinase	Dr. apt. Subaryanti, M. Si Desy Muliana Wenas, M. Si	apt. Erwi Putri Setyaningsih, M.Si Ika Maruya Kusuma, M.Si Saiful Bahri, M.Si	13.00-14.00
6	Andi Soewandi	18334031	Validasi Metode Analisis Penetapan Kadar Medroxyprogesterone Acetate Dan Estradiol Cypionate Dalam Sediaan Suspensi Injeksi Menggunakan Metode	apt. Herdini, M. Si Prof. Dr. Amilius Thalib	Dr. apt. Subaryanti, M.Si apt. Nurul Akhatik, M.Si apt. Amelia Febriani, M.Si	14.00-15.00
7	Chyntia Yoane Putri	21334703	Pengembangan Metode Analisa Penetapan Kadar Isoniazid Sampel Hasil Uji pada 2 Fixed Dosed Combination (2 FDC) Sediaan Tablet Dispersibel	apt. Lia Puspitasari, M. Si Saiful Bahri, M. Si	Dr. apt. Subaryanti, M.Si apt. Nurul Akhatik, M.Si apt. Amelia Febriani, M.Si	15.00-16.00
8	Cyndi Nur Vita Sari	21330737	Analisis Kandungan Formalin Pada Tahu Sutera Di Pasar Tradisional Depok Jaya Dan Agung Menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis	Prof. Dr. Amilius Thalib Desy Muliana Wenas, M. Si	Dr. apt. Subaryanti, M.Si apt. Nurul Akhatik, M.Si apt. Amelia Febriani, M.Si	16.00-17.00

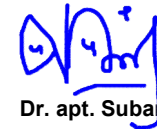
Jakarta, 24 Agustus 2023

Sekretaris Prodi Farmasi



Saiful Bahri M.Si

Ka. Prodi Farmasi



Dr. apt. Subaryanti, M.Si