

Studi Insilico Aktivitas Antioksidan dan ADMET Brazilein Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) terhadap *Escherichia Coli* Extended Spectrum Beta- Lactamase (ESBL)

(Kandidat Suplemen Penguat Sistem Imun)

Dwi Krihariyani¹, Edy Haryanto², Retno Sasongkowati³, Evy Diah Woelansari⁴
^{1,2,3,4}Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Surabaya
Email: dwikrihariyani@gmail.com

Abstrak. *Escherichia coli* penghasil enzim *Extended Spectrum Beta-Lactamase* (ESBL) mendominasi penyebab penyakit infeksi saluran kemih. Mekanisme fagositosis oleh makrofag adalah bentuk respon tubuh untuk mengeliminasi dan menetralkan efek toksin dari bakteri. Proses fagositosis akan terjadi jika makrofag dalam keadaan aktif. Untuk mengaktifkan makrofag diperlukan brazilein kayu secang. Brazilein merupakan kandungan senyawa mayor dalam kayu secang yang secara empiris digunakan sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk memprediksi secara *in silico* aktivitas antioksidan senyawa brazilein yang terkandung dalam kayu secang terhadap enzim ESBL dari *Escherichia coli* isolat penderita ISK, dengan senyawa pembanding vitamin E. Uji *in silico* digunakan untuk memprediksi aktivitas antioksidan dengan melakukan *docking* menggunakan program komputer *Molegro Virtual Docker*. Reseptor yang digunakan adalah *UDP-Galactose 4-Epimerase*, kode PDB: 1KVU, dengan ligan phenol (NAD_340[A]). Prediksi sifat farmakokinetik (ADME), toksisitas dari brazilein dan vitamin E menggunakan program *pkCSM online tool*. Analisis data dilakukan dengan membandingkan energi ikatan hasil *docking* antara brazilein, ligan phenol, dan pembanding vitamin E pada reseptor target. Semakin rendah energi ikatan ligan dengan reseptor target, semakin stabil ikatan yang terbentuk. Hasil uji *in silico* menunjukkan bahwa energi ikatan brazilein = -95.7919 kkal/mol, vitamin E = -108.7316 kkal/mol, dan phenol = -151.8493 kkal/mol. Hasil uji di atas menunjukkan bahwa brazilein memiliki potensi sebagai antioksidan meskipun lebih rendah dibanding vitamin E dan phenol. Hasil uji *in silico* menggunakan program *pkCSM online tool* menunjukkan bahwa senyawa brazilein mempunyai sifat farmakokinetik yang baik, dan menimbulkan toksisitas yang relatif rendah..

Kata Kunci— :Uji *in silico*, Brazilein, Vitamin E, *UDP-Galactose 4-Epimerase*, ADMET

I. PENDAHULUAN

Infeksi saluran kemih (ISK) adalah infeksi oleh mikroorganisme dibagian traktus urinarius. Peningkatan kejadian ISK dapat dipengaruhi oleh kondisi reflus vesikouretral (RVU), obstruksi saluran kemih, pemakaian instrumen uretral baru, dan septikemia [1]. Prevalensi ISK di Indonesia masih cukup tinggi. Menurut data Departemen Kesehatan Republik Indonesia tahun 2014, jumlah penderita ISK di Indonesia adalah 90-100 kasus per 100.000 penduduk pertahunnya atau sekitar 180.000 kasus baru pertahun [2]. ISK merupakan penyakit infeksi tersering kedua setelah infeksi saluran pernafasan, sebanyak 8,3 juta kasus dilaporkan per tahun. Hasil pemeriksaan simptomatik per tahun menunjukkan bahwa sekitar 100.000 pasien melakukan rawat inap dan 7 juta pasien melakukan rawat jalan akibat ISK [3]. ISK

menimbulkan masalah kesehatan yang serius bagi kesehatan masyarakat dan berdampak pada tingginya biaya perawatan di rumah sakit [4].

Saat ini pemberian terapi antibiotik empiris yang rasional, terbukti menurunkan morbiditas dan menyelamatkan banyak nyawa. Namun, khusus untuk penggunaan antibiotik yang tidak tepat, dapat meningkatkan timbulnya mikroorganisme resisten

bahkan multiresisten terhadap antibiotic [5]. Data hasil penelitian Fasugba et.al., 2016, resistensi antibiotik menimbulkan keprihatinan serius terhadap efektivitas antibiotik dalam mengobati infeksi seperti ISK di Australia [6].

Data dari Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) dari tahun 2010-2014 di Kanada dan Amerika Serikat, menunjukkan bahwa terjadi peningkatan resistensi terus menerus dari strain *E. coli* penghasil ESBL terhadap sefalosporin dan fluoroquinolon pada semua pasien ISK. Karena alasan tingginya angka kejadian resistensi antibiotik ini, maka memerlukan kajian lebih lanjut tentang resistensi *E.coli* penghasil ESBL [7].

Escherichia coli dapat melakukan mutasi menjadi organisme penghasil Extended- Spectrum Beta Lactamase (ESBL). ESBL adalah suatu enzim yang dapat menghidrolisis sebagian besar antimikroba golongan beta laktam. Gen penghasil ESBL dapat diturunkan dari satu bakteri ke keturunannya atau dipindahkan dari satu bakteri ke bakteri lain [8]. Resistensi terhadap golongan sefalosporin dapat disebabkan oleh kemampuan bakteri *Enterobacteriaceae* mengeluarkan enzim beta-laktamase, enzim ini dikode oleh gen R (resisten) pada plasmid bakteri.

Resistensi bakteri terhadap antibiotik terjadi melalui banyak mekanisme dan cenderung semakin rumit pendeteksiannya. Kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) merupakan salah satu tanaman obat di Indonesia yang dapat berperan sebagai antibakteri, antioksidan, dan anti-inflamasi [9], [10]. Kayu secang mengandung lima senyawa aktif yang terkait dengan flavonoid. Lima senyawa tersebut berupa brazilin, brazilein, 3'-O-metilbrazilin, sappanin, chalcone, dan sappanalcone. Brazilein merupakan kandungan senyawa mayor yang terdapat dalam kayu secang.

Beberapa penelitian yang mengungkap manfaat kayu secang antara lain adalah: dapat menghambat Mesenchymal Stem Cells Senescence [11]; mampu mengurangi tingkat kerusakan hati yang disebabkan oleh jumlah zat besi yang berlebihan [12]; mampu meningkatkan motilitas, persentase viabilitas, dan konsentrasi sperma tikus wistar jantan [13], dapat memberikan efek antigenotoksis terhadap paparan senyawa mutagen siklofosamid berdasarkan mikronukleus Assay [14]; dapat meningkatkan sitotoksitas dan induksi apoptosis pada Sel T47D [15]; dapat menghambat aktivitas rheumatoid arthritis pada tikus yang diinduksi kolagen arthritis tipe-II [16]; dan dapat menghambat proses katabolik pada kondrosit osteoartritik manusia melalui penghambatan NF κ B1/p50 [17].

Untuk mengetahui aktivitas brazilein sebagai antioksidan, perlu dilakukan uji *in silico* dengan menggunakan bantuan program komputer, baik secara off line maupun on line. Uji *in silico* adalah uji pendekatan untuk memprediksi sifat kimia fisika molekul, sifat farmakokinetika (absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi = ADME), interaksi senyawa dengan reseptor, memprediksi mekanisme aksi, selektivitas dan toksisitas senyawa. Uji ini memiliki beberapa keunggulan, antara lain aman, bebas dari limbah bahan kimia, mudah, hemat biaya dan dapat mempersingkat waktu penelitian.

Sebagai pembanding potensi brazilein sebagai antioksidan digunakan antioksidan alami yaitu vitamin E. Untuk ligan atau molekul yang telah menunjukkan aktivitas biologis yang baik dan mampu mengikat target biologis (reseptor) yang diinginkan (proses docking) pada protein data bank adalah phenol (PDB ID : 1KVU) [18], [19]. Brazilein kayu secang dapat dikembangkan sebagai antioksidan alami. Dikembangkan dalam suatu rancangan obat. Rancangan obat sering digambarkan sebagai proses elaborasi sistematis untuk mengembangkan lebih lanjut obat yang sudah ada dengan tujuan mendapatkan obat baru dengan aktivitas yang lebih baik dan mengurangi atau menghilangkan efek samping yang ada melalui manipulasi molekul. Manipulasi molekul atau modifikasi struktur adalah mensintesis sejumlah turunan induk, melakukan identifikasi struktur dan menguji aktivitas biologisnya. Perubahan struktur dari suatu senyawa akan mengubah sifat fisikokimia senyawa, termasuk sifat lipofilik, elektronik dan sterik, dan hal ini dapat menyebabkan perubahan aktivitas biologis senyawa. Agar lebih efektif dan efisien dalam melakukan modifikasi struktur, sebelum senyawa disintesis diperlukan suatu upaya untuk memprediksi sifat

kimia molekul senyawa, sifat farmakokinetik (ADME), toksisitas, dan mengetahui gambaran interaksi obat dengan reseptor. Oleh karena itu, penelitian ini sangat penting dilakukan untuk mengetahui potensi brazilein sebagai antioksidan secara *in silico* [20].

II. BAHAN-BAHAN DAN METODE

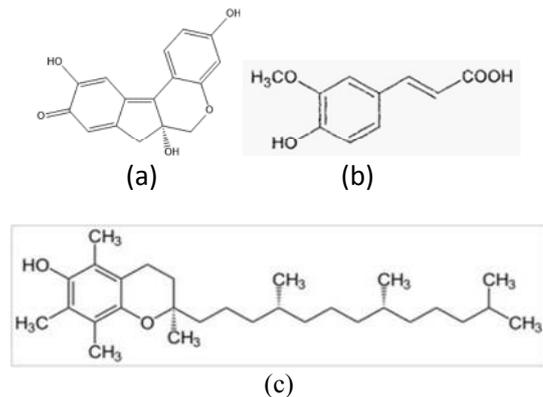
A. Perangkat keras dan perangkat lunak

Bahan : Struktur 3 dimensi (PDB ID : 1KVU) UDP-Galactose 4-Epimerase Complexed With UDP-Phenol yang diunduh dari <http://www.rcsb.org/pdb/home.do>. Kemudian struktur 3 dimensi dari brazilein, vitamin E, dan phenol diunduh dari <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/>.

Alat : Seperangkat computer dengan spesifikasi windows 8 64 bit dan program ChemDraw Professional 16.0, Chem3D 16.0, dan Molegro Virtual Docker 5.

B. Struktur molekul dan optimasi

Senyawa yang akan didocking yaitu brazilein, vitamin E, dan phenol digambar struktur 2-D menggunakan ChemDraw Professional 16.0. kemudian dikonversi menjadi 3-D menggunakan Chem3D 16.0. dan ditentukan konformasi yang



paling stabil (Gbr. 1). Setelah diukur energi minimalnya kemudian disimpan dalam bentuk mol2 {SYBYL2(*.mol2)}.

Gambar 1. (a) Brazilein; (b) Phenol;
(c) Vitamin E

C. Molecular docking

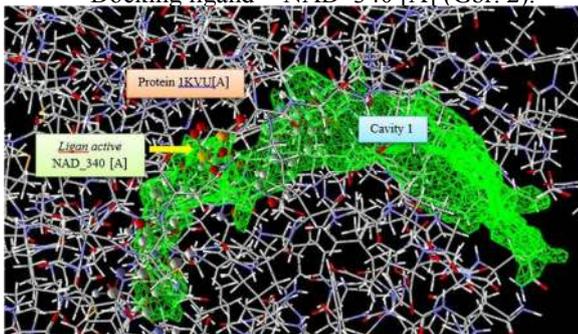
Docking molekul brazilein dan vitamin E ke tempat sisi aktif reseptor target dilakukan dengan menggunakan docking Molegro Virtual Docker 5, menggunakan mesin yang tersedia dalam Sybil2. Algoritma ini memanfaatkan sebuah rongga deteksi algoritma (cavity) untuk mendeteksi tempat ikatan protein sebagai potensi daerah pada sisi aktif untuk berikatan dengan obat (ligan). Penyerangan bentuk ligan yang paling stabil dikombinasikan dengan MM2 dengan pencarian konformasi untuk menghasilkan ligan pose yang konsisten dengan bentuk sisi aktif dari protein. Calon pose yang

diminimalkan energinya dalam sisi aktif menggunakan metode berbasis grid untuk mengevaluasi interaksi energi protein-ligan yang disimpan dalam Mol2 [21]. Docking dilakukan dengan pengaturan standar non Ligand pada Molegro Virtual Docker dengan

5 cavity namun yang digunakan cavity 1 (volume 419.328) untuk protein 1KVU[A]. Optimizer : MolDock SE params; population size = 50; randomize ligand = 1; cavity = 1; recombine = 1; creation energy threshold =

100. Evaluator : Grid Resolution = 0.3.

Docking ligand = NAD_340 [A] (Gbr. 2).



Gambar 2. Struktur kristal *E.coli* ESBL dengan cavity 1 (volume 419.328), active Ligan NAD_340 [A], dan protein 1KVU [A]

D. Prediksi Sifat Fisikokimia, Farmakokinetik, dan Toksisitas Senyawa (pkCSM)

Prediksi sifat fisikokimia seperti : Berat Molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktanol/air (Log P), jumlah ikatan antar atom yang dapat berotasi (Torsion); *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), *Hydrogen Bond Donors* (HBD), dan *Polar Surface Activity* (PSA) dilakukan dengan menggunakan pkCSM *online tool*. Prediksi sifat farmakokinetika (ADME: absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi) serta toksisitas dari senyawa brazilein, vitamin E, dan phenol juga dilakukan dengan menggunakan pkCSM *online tool*. Pertama, senyawa brazilein, vitamin E, dan phenol digambar struktur molekul 2-D dengan program *ChemDraw Professional* 16.0, kemudian dikopi pada program Chem3D 16.0 untuk membuat struktur 3-D, selanjutnya disimpan dalam bentuk file*.sdf. Kedua, struktur brazilein, vitamin E, dan phenol diterjemahkan menjadi bentuk format SMILES dengan menggunakan bantuan *Online SMILESTranslator* (<https://cactus.nci.nih.gov/translate/>). Dalam bentuk format SMILES inilah senyawa diproses menggunakan pkCSM *online tool* (http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsml/predicti_on) untuk memprediksi ADME dan toksisitas senyawa. Untuk memprediksi toksisitas (LD50) per oral pada *globally harmonized system* (GSH) digunakan *Prottox online tool* (<http://tox.charite.de/tox/>) [20], [22].

E. Analisis Data

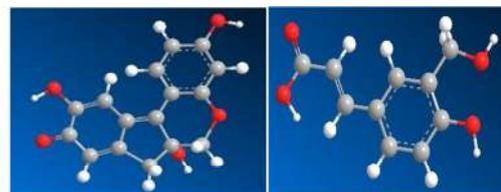
Hasil dari *molecular docking* adalah energi ikatan. Nilai energi ikatan menunjukkan kekuatan ikatan antara senyawa

dan reseptor. Semakin rendah harga energi ikatan, maka ikatannya semakin kuat dan stabil. Sedangkan hasil dari pkCSM *online tool* adalah prediksi sifat farmakokinetika (ADME: absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi) serta toksisitas dari senyawa brazilein, vitamin E, dan phenol.

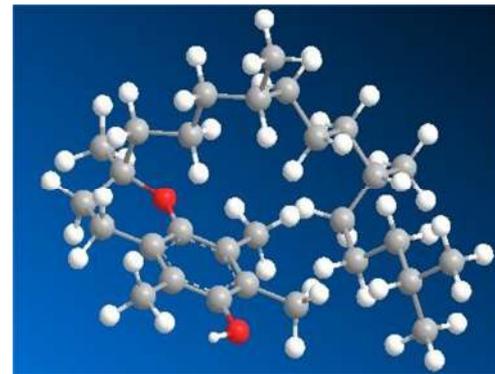
III. HASIL PENELITIAN

A. Optimasi Struktur 3D Senyawa Brazilein, Vitamin E, dan Phenol.

Optimasi brazilein, vitamin E, dan phenol digambar struktur 2-D menggunakan *ChemDraw Professional* 16.0. kemudian dikonversi menjadi 3-D menggunakan *Chem3D* 16.0. dan ditentukan konformasi yang paling stabil. Setelah diukur energi minimalnya kemudian disimpan dalam bentuk



(a) (b)



(c)

mol2 {SYBYL2(*.mol2)} (Gbr. 3).

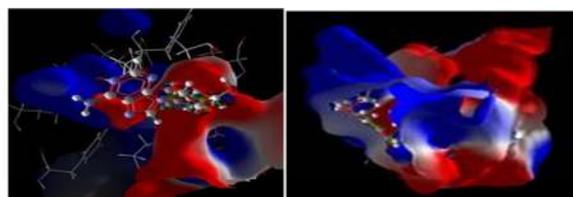
Gambar 3. Hasil optimasi struktur tiga dimensi senyawa (a) Brazilein; (b) Phenol; (c) Vitamin E

B. Interaksi model brazilein, vitamin E, dan phenol dengan *Escherichia coli* ESBL

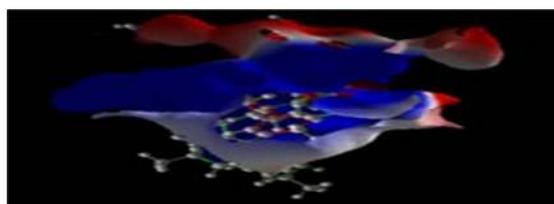
Untuk mempelajari model pengikatan brazilein dan vitamin E pada sisi aktif *Escherichia coli* ESBL maka dilakukan simulasi *re-docking* antarmolekul secara fleksibel melalui program *Molegro Virtual Docker*. Semua senyawa pada dataset dimasukkan ke dalam sisi aktif pada *Escherichia coli* ESBL, menggunakan protokol yang sama. Aktivitas biologis dipengaruhi oleh sifat-sifat kimia fisika yaitu sifat lipofilik/hidrofobik, elektronik, dan sterik. Sifat lipofilik/hidrofobik : mempengaruhi kemampuan senyawa dalam menembus membran biologis (distribusi obat ke reseptor). Sifat elektronik : mempengaruhi kekuatan ikatan

obat-reseptor dan kemampuan senyawa dalam menembus membran biologis (bentuk molekul obat). Sifat sterik : menentukan keserasian interaksi obat-reseptor.

Gambar 4. Cavity 1 dan Ligan (a) Brazilein; Phenol; (c) Vitamin E

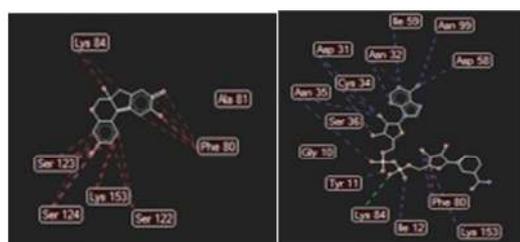


(a) (b)

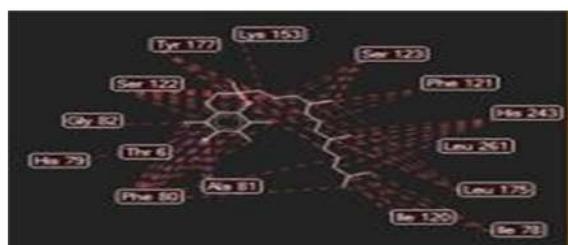


(c)

Gambar 5. Interaksi antara Ligan dan reseptor 1KVU[A] (*H-Bond, electronic, steric*)



(a) (b)



(c)

Bond, electronic, steric) (a) Brazilein; (b) NAD_340 [A]; (c) Vitamin E

Tabel 1. Hasil re-docking menggunakan program Molegro Virtual Docker Batchjob

File name	[00]Brazilein.mvdml	[02]NAD_340 [A].mvdml	[01]Vitamin E.mvdml
Ligand	Brazilein	NAD_340[A]	Vitamin E
MolDock Score [GRID] (*)	-120.556	-213.943	-132.171
MolDock Score	-113.887	-192.389	-134.099
Rerank Score	-95.7919	-151.8493	-108.7316
RMSD	13.9553	16.0906	18.1242
Torsions	0	11	12

Tabel 2. Interaksi antara Ligan dan reseptor 1KVU[A] (*H-Bond, electronic, steric*)

Tabel 3. Deskripsi Molekul Brazilein, Vitamin E, dan Phenol

Struktur SMILES	Brazilein	Vitamin E	Phenol
A	284.267	430.717	194.186
B	1.624	8.84026	0.9823
C#	0	12	3
D#	5	2	3
E#	3	1	3
F	119.652	192.727	80.746

Tabel 4. Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi, dan Toksisitas dari Brazilein, Vitamin E, Phenol

Property	Model Name	Predicted Value			Unit
		Bra zile in	Vita m i n E	Phe nol	
Absorp ti on	Water solubility	- 2.83 5	-7.93	- 2.5 89	Numeric (log mol/L)
Absorp ti on	Caco2 permeability	0.50 6	1.139	0.7 23	Numeric (log Papp in 10 ⁻⁶ cm/s)
Absorp ti on	Intestinal absorption (human)	90.0 21	89.01 1	68. 616	Numeric (% Absorbed)
Absorp ti on	Skin Permeability	- 3.49 8	- 2.753	- 2.7 29	Numeric (log Kp)
Absorp ti on	P-glycoprotein substrate	Yes	No	Yes	Categoric al (Yes/No)
Absorp ti on	P-glycoprotein I inhibitor	No	No	No	Categoric al (Yes/No)
Absorp ti on	P-glycoprotein II inhibitor	No	Yes	No	Categoric al (Yes/No)
Distribut ion	VDss (human)	0.19 4	0.893	- 1.2 67	Numeric (log L/kg)
Distribut ion	Fraction unbound (human)	0.25 8	0	0.5 18	Numeric (Fu)
Distribut ion	BBB permeability	- 0.66 2	0.98	- 0.6 96	Numeric (log BB)
Distribut ion	CNS permeability	- 2.35 5	- 1.533	- 2.6 94	Numeric (log PS)
Metaboli sm	CYP2D6 substrate	No	No	No	Categoric al (Yes/No)
Metaboli sm	CYP3A4 substrate	Yes	Yes	No	Categoric al (Yes/No)
Metaboli sm	CYP1A2 inhibitor	No	No	No	Categoric al (Yes/No)
Metaboli sm	CYP2C19 inhibitor	No	No	No	Categoric al (Yes/No)
Metaboli sm	CYP2C9 inhibitor	No	No	No	Categoric al (Yes/No)
Metaboli sm	CYP2D6 inhibitor	No	No	No	Categoric al (Yes/No)
Metaboli sm	CYP3A4 inhibitor	No	No	No	Categoric al (Yes/No)
Excreti on	Total Clearance	0.26 4	0.796	0.6 38	Numeric (log ml/min/kg)

Excreti on	Renal OCT2 substrate	No	No	No	Categoric al (Yes/No)
Ligan	Brazilein	NAD_340[A]	Vitamin E		
Ikatan Hidrogen dan residu asam amino	3 Ser 9 Asn 32 Asp 31	12 Asp 58 Asn 99 Ile 59 Asn 32 Asp 31 Cys 34 Asn 35 Tyr 11 Lys 84 Ile 12 Lys 153 Phe 80	1 Asn 35		
Interaksi Elektrostatik dan residu asam amino	0 -	1 Lys 84	0 -		
Interaksi Sterik dan residu asam amino	8 Tyr 11 Gly 10 Asn 35 Ser 36 Ser 9 Asp 31 Asn 32 Leu 33	14 Asp 58 Asn 99 Ile 59 Asn 32 Cys 34 Asp 31 Ser 36 Gly 10 Asn 35 Lys 84 Tyr 11 Lys 153 Ile 12 Phe 80	15 Ser 9 Asp 31 Ile 8 Ile 12 Gly 13 Gly 7 Ser 14 Gly 10 Gly 190 Tyr 11 Ala 81 Asn 32 Cys 34 Ser 36 Asn 35		
Toxicity	AMES toxicity	Yes	No	Yes	Categoric al (Yes/No)
Toxicity	Max. tolerated dose (human)	- 0.06 3	0.933	1.3 5	Numeric (log mg/kg/day)
Toxicity	hERG I inhibitor	No	No	No	Categoric al (Yes/No)
Toxicity	hERG II inhibitor	No	Yes	No	Categoric al (Yes/No)
Toxicity	Oral Rat Acute Toxicity (LD50)	2.24 6	1.95	2.3 79	Numeric (mol/kg)
Toxicity	Oral Rat Chronic Toxicity (LOAEL)	2.27 9	2.359	1.7 22	Numeric (log mg/kg_bw/day)
Toxicity	Hepatotoxicity	No	No	No	Categoric al (Yes/No)
Toxicity	Skin Sensitisation	No	No	No	Categoric al (Yes/No)
Toxicity	<i>T.Pyiformis</i> toxicity	0.66 6	1.108	0.2 65	Numeric (log ug/L)
Toxicity	Minnow toxicity	2.25 2	-	2.0 19	Numeric (log mM)

IV. PEMBAHASAN

Energi ikatan brazilein dengan reseptor 1KVU [A] lebih tinggi dibandingkan vitamin E dan NAD_340[A]. Brazilein memiliki nilai rerank score -95.7919 kkal/mol, vitamin E dengan rerank score -108.7316, dan NAD_340[A] dengan rerank score -151.8493. Dilihat dari Rerank Score menunjukkan bahwa brazilein memberikan energi yang lebih tinggi dibandingkan vitamin E dan NAD_340[A], sehingga kurang stabil dalam pengikatan dengan reseptor bila dibandingkan dengan vitamin E dan NAD_340[A], seperti pada tabel 1. Interaksi antara Ligan dan reseptor 1KVU [A]

(H-Bond, electronic, steric) pada tabel 2 menunjukkan bahwa : Brazilein berinteraksi dengan reseptor 1KVU [A] melalui 3 ikatan hydrogen dengan residu asam amino Ser 9, Asn 32, dan Asp 31; tidak terdapat interaksi elektrostatis; dan memiliki 8 interaksi sterik dengan residu asam amino Tyr 11, Gly 10, Asn 35, Ser 36, Ser 9, Asp 31, Asn 32, Leu 33. Vitamin E berinteraksi dengan reseptor 1KVU [A] melalui 1 ikatan hydrogen dengan residu asam amino Asn 35; tidak memiliki interaksi elektrostatis dengan residu asam amino; dan memiliki 15 interaksi sterik dengan residu asam amino Ser 9, Asp 31, Gly 8, Ile 12, Gly 13, Gly 7, Ser 14, Gly 10, Gly 190, Tyr 11, Ala 81, Asn 32, Cys 34, Ser 36, Asn 35. NAD_340[A] berinteraksi dengan reseptor 1KVU [A] melalui 12 ikatan hydrogen dengan residu asam amino Asp 58, Asn 99, Ile 59, Asn 32, Asp 31, Cys 34, Asn 35, Tyr 11, Lys 84, Ile 12, Lys 153, Phe 80; memiliki 1 interaksi elektrostatis dengan residu asam amino Lys 84; dan memiliki 14 interaksi sterik dengan residu asam amino Asp 58, Asn 99, Ile 59, Asn 32, Cys 34, Asp 31, Ser 36, Gly 10, Asn 35, Lys 84, Tyr 11, Lys 153, Ile 12, Phe 80

Prediksi Sifat Fisikokimia, Farmakokinetik, dan Toksisitas Senyawa (pkCSM)

Struktur (SMILES) senyawa brazilein, vitamin E, dan phenol dapat dilihat pada tabel 3. Lipinski et al. (1997) telah menganalisis 2.245 obat dari data dasar World Drugs Index dan menyimpulkan bahwa senyawa akan sulit diabsorpsi dan permeabilitasnya rendah apabila berat molekulnya lebih besar 500, mempunyai nilai log koefisien partisi oktanol/air (log P) lebih besar +5; mempunyai ikatan-H donor (HBD), yang dinyatakan dengan jumlah gugus O-H dan N-H, lebih besar 5; dan mempunyai ikatan-H aseptor (HBA), yang dinyatakan dengan jumlah atom O dan N, lebih besar 10. Analisis di atas dikenal sebagai hukum lima Lipinski karena semua nilai merupakan kelipatan dari angka lima [23]. Dari tabel 3 dapat dianalisis bahwa brazilein, vitamin E, dan phenol memiliki berat molekul kurang dari 500, nilai logP kurang dari 5, nilai aseptor dan donor kurang dari 10, sehingga dapat disimpulkan bahwa ketiga senyawa tersebut mudah diabsorpsi.

Menurut Chander et al. (2017), senyawa dikatakan mempunyai absorpsi yang baik bila nilai absorpsinya > 80%, dan absorpsinya jelek bila < 30%. Usus merupakan tempat utama untuk penyerapan obat yang diberikan secara oral [24]. Dari tabel 4 dapat dilihat bahwa nilai intestinal absorption (human) dari senyawa brazilein, vitamin E, dan phenol lebih

dari 80% dan tidak kurang dari 30%, menunjukkan bahwa ketiga senyawa tersebut mempunyai absorpsi yang baik.

Menurut Pires et al. (2015), senyawa dikatakan mempunyai permeabilitas kulit yang relatif rendah bila mempunyai nilai $\log K_p > -2,5$. Dari tabel 4 dapat dilihat bahwa nilai Skin Permeability ($\log K_p$) dari senyawa brazilein, vitamin E, dan phenol berkisar antara -2,7 sampai -3,4, berarti kurang dari -2,5, sehingga dapat diprediksi bahwa ketiga senyawa tersebut mempunyai permeabilitas kulit yang baik [22].

Volume distribusi (VDSS) adalah volume teoritis bahwa dosis total obat perlu didistribusikan secara merata untuk memberikan konsentrasi yang sama seperti pada plasma darah. Semakin tinggi nilai VD, semakin banyak obat yang didistribusikan di jaringan daripada plasma. Menurut Pires et al. (2015), senyawa dikatakan mempunyai Volume Distribusi rendah bila nilai $\log VD < -0,15$, dan tinggi bila $> 0,45$. Dari tabel 4 dapat dilihat bahwa nilai VDss (Steady State of Volume Distribution) dari senyawa brazilein = 0.194, vitamin E = 0.893, dan phenol = -1.267, sehingga dapat diprediksi bahwa semua turunan senyawa tersebut dapat didistribusikan secara merata untuk memberikan konsentrasi yang sama seperti pada plasma darah.

Kemampuan obat untuk menembus sawar darah otak (Blood Brain Barrier) merupakan parameter penting yang perlu dipertimbangkan untuk membantu mengurangi efek samping dan toksisitas atau untuk meningkatkan khasiat obat yang aktivitas farmakologisnya ada di dalam otak. Permeabilitas otak-darah diukur secara *in vivo* pada model hewan sebagai $\log BB$, yaitu rasio logaritmik konsentrasi pada otak terhadap plasma. Menurut Pires et al. (2015), senyawa dikatakan mampu menembus sawar darah otak dengan baik bila mempunyai nilai $\log BB > 0,3$, dan tak dapat terdistribusi dengan baik bila $\log BB < -1$. Dari tabel 4 dapat dilihat bahwa nilai $\log BB$ dari senyawa brazilein = -0.662, vitamin E = 0.98, dan phenol = -0.696, yang berarti lebih besar dari -1, sehingga dapat diprediksi bahwa semua turunan senyawa tersebut mampu menembus sawar darah otak secara moderat.

Secara umum diketahui bahwa sebagian besar reaksi metabolik akan melibatkan proses oksidasi. Sitokrom P450 adalah enzim detoksifikasi penting dalam tubuh, dan terutama ditemukan di hati. Bekerja dengan cara mengoksidasi senyawa organik asing, termasuk obat, dan memfasilitasi ekskresi senyawa tersebut. Inhibitor enzim ini, seperti jus grapefruit, dapat mempengaruhi metabolisme obat sehingga dikontraindikasikan terhadap enzim sitokrom P450. Oleh karena itu penting untuk menilai kemampuan senyawa yang dapat menghambat sitokrom P450, yang dalam penelitian ini diwakili oleh isoform sitokrom CYP3A4. Dari tabel 4 dapat dilihat bahwa senyawa brazilein, vitamin E, dan phenol tidak mempengaruhi atau menghambat enzim CYP3A4, sehingga dapat diprediksi senyawa turunan tersebut cenderung dimetabolisme oleh enzim P450.

Untuk memprediksi proses ekskresi senyawa dapat dilakukan dengan mengukur tetapan Total Clearance (CLTOT)

dan Renal Organic Cation Transporter 2(OCT2) substrate. CLTOT merupakan kombinasi dari hepatic clearance (metabolisme di hati dan empedu) dan renal clearance (ekskresi melalui ginjal). Hal ini terkait dengan bioavailabilitas, dan penting untuk menentukan tingkat dosis dalam mencapai konsentrasi steady-state. Dari tabel 4 dapat dilihat bahwa nilai CLTOT brazilein = 0.264, vitamin E = 0.796, dan phenol = 0.638, dari nilai-nilai tersebut dapat diprediksi kecepatan ekskresi senyawa.

Organic Cation Transporter 2 adalah transporter pada ginjal yang memegang peran penting dalam disposisi dan clearance obat-obatan dan senyawa endogen. Substrat OCT2 juga berpotensi menimbulkan interaksi sampingan bila diberikan bersama-sama dengan inhibitor OCT2. Dari tabel 4 dapat dilihat bahwa ketiga senyawa tidak mempengaruhi substrat OCT2, sehingga dapat diprediksi senyawa turunan tersebut bukan merupakan substrat OCT2.

Untuk menentukan toksisitas senyawa dapat dilakukan dengan uji Ames Toxicity. Uji Ames Toxicity adalah metode yang digunakan secara luas untuk menilai potensi mutagenik senyawa dengan menggunakan bakteri. Hasil uji positif menunjukkan bahwa senyawa tersebut bersifat mutagenik dan oleh karena itu dapat bertindak sebagai karsinogen. Dari tabel 4 dapat dilihat bahwa brazilein dan phenol diprediksi menimbulkan efek mutagenik. Sedangkan vitamin E diprediksi tidak menimbulkan efek mutagenik

V. KESIMPULAN

Energi ikatan brazilein lebih tinggi dibandingkan vitamin E dan phenol pada reseptor target. Perbandingan nilai energi ikatan tersebut menunjukkan bahwa brazilein memiliki potensi sebagai antioksidan, tetapi lebih rendah dibandingkan dengan vitamin E dan phenol secara *in silico* dengan metode *molecular docking*. Sifat farmakokinetik (ADME), dan toksisitas senyawa brazilein diprediksi akan diabsorpsi dengan sangat baik di usus, mempunyai permeabilitas kulit yang baik, dapat didistribusikan secara merata untuk memberikan konsentrasi yang sama seperti pada plasma darah, mampu menembus sawar darah-otak secara moderat, cenderung dimetabolisme oleh enzim P450, mempunyai toksisitas yang relatif rendah, dan diprediksi mempunyai aktivitas sitotoksik yang paling besar menggunakan pkCSM *online tool*

DAFTAR PUSTAKA

- [1] P. M. Tille, Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology, Fourteenth Edition. 2017.
- [2] P. Darsono, D. Mahdiyah, and M. Sari, "Gambaran Karakteristik Ibu Hamil Yang Mengalami Infeksi Saluran Kemih (Isk) Di Wilayah Kerja Puskesmas Pekauman Banjarmasin," *Din. Kesehat.*, vol. 1, pp. 162–170, 2016.
- [3] M. Widianingsih and A. M. De Jesus, "Isolasi Escherichia coli Dari Urine Pasien Infeksi Saluran Kemih Di Rumah Sakit Bhayangkara Kediri," *Al-Kauniyah J. Biol.*, vol. 11, no. 2, pp. 99–108, 2018.
- [4] M. Grabe et al., "Guidelines On Urological Infections," *CEUR Workshop Proc.*, vol. 1542, no. 9, pp. 33–36, 2015.
- [5] RI Kemenkes, "Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik," 2011.
- [6] O. Fasugba, B. G. Mitchell, G. Mnatzaganian, A. Das, P. Collignon, and A. Gardner, "Five-Year Structure of Iron overload of Rat (Antimicrobial Resistance Patterns of Rattus norvegicus)," vol. 2017, pp. Urinary Escherichia coli at an 497–512, 2017.
- [7] Australian Tertiary Hospital : Time
- [8] Nadiyah, A. Rezano, and S. Series Analyses of Prevalence Data," *Sudigdoadi, "Effect of Sappan Wood pp. 1–14, 2016. Ethanol Extracts (Caesalpinia Sappan*
- [9] S. H. Lob, L. E. Nicolle, D. J. Hoban, L) To the Sperm Motility , Sperm K. M. Kazmierczak, R. E. Badal, and Viability and Sperm Concentration D. F. Sahn, "Susceptibility patterns Effect of Sappan Wood Ethanol and ESBL rates of Escherichia coli Extracts (Caesalpinia Sappan . L) To from urinary tract infections in the Sperm Motility , Sperm Viability Canada and the United States, and Sperm Concentra," *Althea Med.*
- [10] SMART 2010–2014," *Diagn. Journal.*, vol. 4, no. 2, pp. 228–233, *Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 85, no. 4, 2017. pp. 459–465, 2016.
- [11] R. N. Sugiyanto, S. R. Putri, F. S.S. Sutandhio, L. Alimsardjono, and Damanik, and G. M. A. Sasmita, M. I. Lusida, "Distribusi dan Pola "Aplikasi Kayu Secang (Caesalpinia Kepekaan Enterobacteriaceae dari sappan L.) dalam Upaya Prevensi spesimen Urin di RSUD DR. Kerusakan DNA Akibat Paparan Zat Soetomo Surabaya Periode Januari Potensial Karsinogenik melalui Juni 2015," pp. 2–9, 2015. MNPCE ASSAY," *Fak. Farm. Univ.*
- [12] S. Hardjono, "Prediksi Sifat Farmakokinetik , Toksisitas dan Aktivitas sebagai Calon Obat Antikanker melalui Pemodelan Molekul (Prediction of Pharmacokinetic Properties , Toxicity and Derivatives as Anticancer Drugs Candidate through Molecular Modeling)," vol. 14, no. 2, pp. 246–255, 2017.
- [13] A. R. Puspaningtyas, "Molekular Docking Dengan Metode Molegro Virtual Docker Turunan Kalkon Sebagai Antimikroba," *Stomatognatic (J.K.G Unej) Vol.*, vol. 9, no. c, 2012.
- [14] D. E. V. Pires, T. L. Blundell, and D.
- [15] B. Ascher, "pkCSM: Predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures," *J. Med. Chem.*, vol. 58, no. 9, pp. 4066–4072, 2015.
- [16] C. A. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, and P. J. Feeney, "Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings," vol. 23, 1997.
- [17] S. Chander et al., "Synthesis and study of anti-HIV-1 RT activity of 5-benzoyl-4-methyl-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1,5-benzodiazepin-2-one derivatives," *Bioorg. Chem.*, vol. 72, pp. 74–79, 2017.