

# Prediksi Farmakokinetik, Toksisitas, dan Aktivitas Enzim Protease HIV-1 Inhibitor dari Daun *J. gendarussa*

Agustinus Widodo\*

Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tadulako Palu

*Justicia gendarussa* Burm.f. (Acanthaceae) telah diketahui memiliki aktivitas anti-HIV. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui interaksi flavonoid (gendarusin A, B, C, D, dan E) dari daun *J. gendarussa* terhadap reseptor protease HIV-1. Diharapkan penelitian ini akan memberikan informasi ilmiah tentang pengembangan daun *J. gendarussa* sebagai obat anti-HIV. Penelitian ini menggunakan metode uji *in silico* dengan FAF-Drugs4 untuk memprediksi ADMET (absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi-toksisitas), dan Molegro Virtual Docker (MVD) untuk memprediksi aktivitas lima senyawa gendarusin terhadap reseptor protease HIV-1 (PDB ID: 4HLA). Prediksi aktivitas ini diamati dari ikatan hidrogen, ikatan sterik, dan *rerank score* yang ditampilkan pada program MVD. Senyawa gendarusin memiliki bioavailabilitas oral yang baik dan tidak beracun, dan dari uji *docking* molekul, diprediksi bahwa gendarusin daun *J. gendarussa* dapat menghambat aktivitas enzim protease HIV-1. Gendarusin dari *J. gendarussa* berpotensi sebagai anti-HIV.

**Kata kunci:** *Justicia gendarussa* Burm.f., protease HIV-1, *in silico*

## Prediction of Pharmacokinetics Toxicity and Protease HIV-1 Inhibitor Activity of *J. gendarussa* Leaves

*Justicia gendarussa* Burm.f. (Acanthaceae) has been known to have anti-HIV activity. This study was conducted to determine the interaction of flavonoids (gendarusin A, B, C, D, and E) on the *J. gendarussa* leaves against HIV-1 protease receptor. It is expected that this research will provide scientific information on the development of *J. gendarussa* leaves as an anti-HIV drug. This study used *in silico* testing methods with FAF-Drugs4 to predict the ADMET (absorption, distribution, metabolism, and excretion-toxicity), and Molegro Virtual Docker (MVD) to predict the activity of five gendarusin compounds to the receptor of HIV-1 protease (PDB ID: 4HLA). The activity prediction was reflected by hydrogen bond and steric bond visible in MVD program with amino acid residue of the receptor of HIV-1 protease. Gendarusin compounds had good oral bioavailability and were not toxic, and from molecular docking test, it was found that gendarusin of *J. gendarussa* leaves could inhibit the activity of HIV protease enzyme. Gendarusin of *J. gendarussa* has potential as an anti-HIV.

**Keywords:** *Justicia gendarussa* Burm.f., protease HIV-1, *in silico*

---

\*Corresponding author: Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tadulako, Jl. Soekarno Hatta KM.9 Palu, e-mail: aureliasesy1@gmail.com

---

## PENDAHULUAN

HIV merupakan salah satu retrovirus yang menyerang sistem kekebalan tubuh manusia. HIV merusak sistem kekebalan tubuh dengan menghancurkan jenis sel darah putih yang disebut sel limfosit T yang pada permukaannya terdapat reseptor *cluster of differentiation 4 (CD4)*. Ketika jumlah sel limfosit T-CD4 rendah maka seseorang lebih rentan terhadap infeksi tertentu (Pattman *et al.*, 2005). Sistem kekebalan tubuh akan rusak secara perlahan seiring bertambahnya jumlah virus (*viral load*) dalam tubuh (Naif, 2013). Tahap akhir dari infeksi HIV adalah AIDS, yaitu ketika CD4 turun ke tingkat yang sangat rendah (biasanya <200 sel/mm<sup>3</sup>), sehingga kemampuan untuk melawan infeksi tertentu secara serius terganggu (Pattman *et al.*, 2005).

Salah satu pendekatan untuk pengembangan obat anti-HIV dapat dilakukan melalui program penelitian obat tradisional baik flora maupun fauna. Penelitian obat tradisional diarahkan untuk mencari bukti ilmiah tentang obat tradisional tersebut. Saat ini salah satu tanaman yang sedang dikembangkan sebagai anti-HIV adalah *Justicia gendarussa* Burm.f. (Acanthaceae). Daun *J. gendarussa* mengandung amina aromatis tersubstitusi (Chakravarty *et al.*, 1982), glikosida flavonoid yaitu gendarusin A dan B (Prajogo *et al.*, 2009), dan alkaloid justidrusamida A, B, C dan D (Kiren *et al.*, 2014). Komponen utama dalam ekstrak etanol 70% adalah glikosida flavonoid apigenin yang disebut Gendarusin A (Prajogo *et al.*, 2010). Senyawa flavonoid diketahui berperan sebagai sumber alami anti-HIV untuk terapi penderita (Veljkovic *et al.*, 2007; Ko *et al.*, 2009).

Hasil uji secara *in vitro* menggunakan ekstrak etanol 70%, ekstrak etanol 70% terfraksinasi, dan ekstrak air daun *J. gendarussa* menunjukkan aktivitas menghambat enzim reverse transcriptase HIV (Woradulayapinij *et al.*, 2005; Prajogo *et al.*, 2014). Penelitian terbaru uji ekstrak daun *J. gendarussa* pada kultur sel MOLT-4 yang terinfeksi HIV, hasilnya menunjukkan bahwa daun *J. gendarussa* dapat menghambat replikasi HIV melalui penurunan jumlah p24 dan penghambatan pembentukan *syncytia* (Widiyanti *et al.*, 2015).

Pada penelitian ini dilakukan uji *in silico* untuk memprediksi ADMET (absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas) senyawa gendarusin, dan uji *in silico* aktivitas anti-HIV senyawa gendarusin daun *J. gendarussa* melalui mekanisme penghambatan enzim protease HIV. Penelitian menggunakan metode *in silico* dipilih karena metode ini sering digunakan dalam penemuan dan pengembangan suatu obat, metode ini dapat memberikan penghematan baik dari segi biaya maupun waktu (Markus *et al.*, 2003; Yanuar *et al.*, 2011).

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Software: ChemBio Draw Ultra 12.0 untuk menggambar struktur 2 Dimensi (2D) dan 3 Dimensi (3D) ligan, FAF-Drugs4 online untuk prediksi ADMET, dan Molegro Virtual Docker versi 5 untuk analisis *docking* Hardware: Komputer Windows 10 Pro, Intel(R) Core(TM) i3-3110M CPU @ 2.40GHz, RAM 2,00 GB, 64-bit Operating System, x-64based processor. Struktur 2D dan 3D dari senyawa gendarusin daun *Justicia gendarussa* Burm.f. Reseptor Protease (PDB ID : 4HLA) yang diperoleh dari Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb/explore.do?structureId=4hla>).

### Preparasi Struktur Protein

Kristal protein dengan reseptor protease (PDB ID : 4HLA) ditambahkan atom H dan diperbaiki apabila ada kesalahan/kekurangan dari asam amino yang ada. Hal ini dilakukan secara otomatis oleh program Molegro Virtual Docker.

### Preparasi Ligan

Menggambar struktur 2D dari struktur gendarusin A, gendarusin B, gendarusin C, gendarusin D dan gendarusin E pada program ChemBioDraw Ultra 12.0. Masing-masing struktur di atas kemudian dijadikan struktur 3D dengan menggunakan program ChemBio3D Ultra 12.0, program ini dapat untuk melihat bentuk stereokimia senyawa dan mengatur bentuk yang paling stabil dari senyawa dengan cara meminimalkan energi, kemudian disimpan dalam bentuk file SYBYL.mol2, dan digunakan untuk proses *docking*.

### Prediksi ADMET Ligan

Prediksi ADMET senyawa gendarusin menggunakan program FAF-Drugs4 online (<http://mobylye.rpbs.univ-paris-diderot.fr/cgi-bin/portal.py?form=FAF-Drugs4#forms::FAF-Drug4>), program ini dapat memprediksi absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas berdasarkan berat molekul, logP, tPSA, atau ikatan rotasi.

### Prediksi Aktivitas dengan Docking dan Analisis Asam Amino

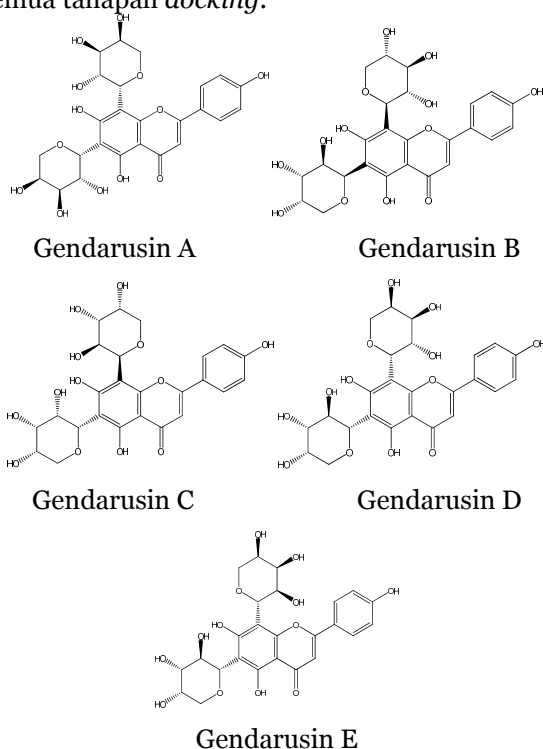
*Docking* menggunakan program Molegro Virtual Docker, dan asam amino yang terlibat pada proses interaksi obat reseptor dibandingkan antara masing-masing senyawa, demikian pula dengan nilai *docking score*. Senyawa dengan energi yang paling rendah menunjukkan interaksi obat-reseptor yang paling stabil, dan diprediksi mempunyai aktivitas biologis yang paling tinggi diantara senyawa-senyawa tersebut (Siswando, 2011).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Preparasi Ligan

Hasil pembuatan struktur 2D dengan menggunakan program ChemBioDraw Ultra 12.0 ditunjukkan pada Gambar 1. Struktur 2D

kemudian digunakan untuk membuat struktur 3D dengan menggunakan program ChemBio3D Ultra 12.0. Struktur 3 D selanjutnya digunakan pada semua tahapan *docking*.



**GAMBAR 1.** Struktur 2 Dimensi Senyawa Gendarusin.

**Prediksi ADMET Ligan**

Skринing senyawa gendarusin (A, B, C, D, dan E) dan Darunavir ditentukan dengan menggunakan program FAF-Drugs4 dan hasilnya ditunjukkan pada Tabel 1. Lima senyawa gendarusin menunjukkan hasil yang sama, karena perbedaan posisi gugus gula yang terikat pada atom C6 dan C8 tidak mempengaruhi sifat kimia senyawa secara *in silico*.

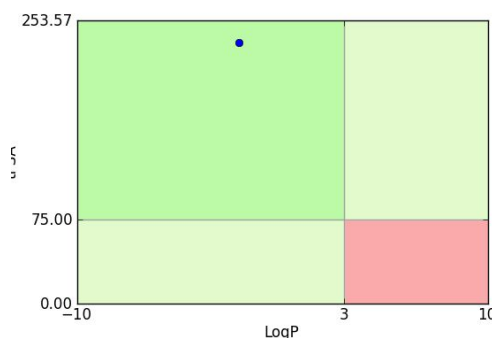
Hasil prediksi ADME menunjukkan lima senyawa gendarusin memiliki bioavailabilitas oral yang baik. Bioavailabilitas oral yang tinggi menjadi pertimbangan penting dalam mengembangkan molekul bioaktif. skринing bioavailabilitas oral suatu senyawa dilakukan berdasarkan dua aturan yaitu *Veber's rule* (Veber et al., 2002) dan *Egan's rule* (Egan et al., 2000). Berdasarkan *Veber's rule* suatu senyawa dapat dikatakan memiliki bioavailabilitas oral yang baik jika: ikatan rotasi  $\leq 10$ ; tPSA (topological polar surface area)  $\leq 140 \text{ \AA}$ ; dan donor HB dan akseptor HB  $\leq 12$ . Sedangkan *Egan's rule* menyatakan, bahwa senyawa yang memiliki bioavailabilitas oral yang baik jika:  $0 \geq \text{tPSA} \leq 132 \text{ \AA}$  dan Nilai log P  $\leq 5$ .

Profil keamanan dari senyawa gendarusin ditentukan dengan program FAF-Drugs4 dan hasilnya ditunjukkan pada Gambar 2. Berdasarkan *Pfizer 3/75 Rule Positioning*, senyawa yang berada di kotak merah cenderung menyebabkan toksisitas, sedangkan senyawa gendarusin berada pada kotak hijau yang artinya tidak toksik.

**TABEL 1.** Hasil Skринing Ligan Menggunakan FAF-Drugs4.

Senyawa	Gendarusin	Darunavir
BM	534.47	547,66
logP	-2.12	2.94
tPSA	233.57	148.80
Ikatan rotasi	3	11
Donor HB	9	4
Akseptor HB	13	10
BA <i>Veber</i>	Baik	Rendah
Oral <i>Egan</i>	Baik	Baik

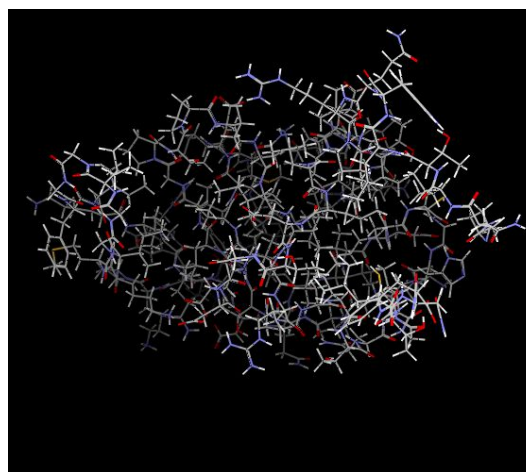
Keterangan : BM: Bobot Molekul; logP: indeks lipofisitas/hidrofobisitas; tPSA: *topological polar surface area*; HB: *hydrogen bond*; BA oral : bioavailabilitas oral



**GAMBAR 2.** Profil Keamanan Gendarusin (●) Berdasarkan *Pfizer 3/75 Rule Positioning*.

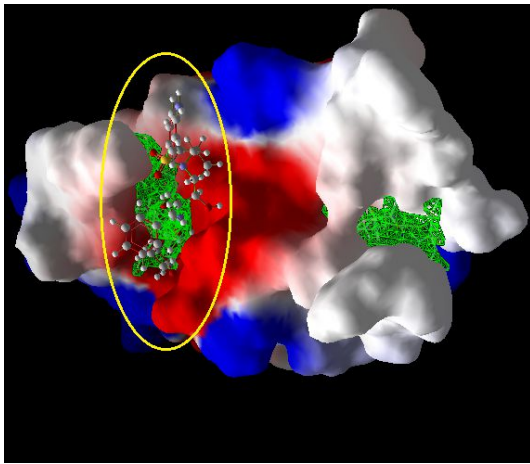
**Prediksi Aktivitas dengan Docking dan Analisis Asam Amino**

Reseptor Protease yang telah di unduh pada situs Protein Data Bank dengan kode 4HLA, dan telah di *import* pada program Molegro Virtual Docker ditunjukkan pada Gambar 3.



**GAMBAR 3.** Reseptor Protease (PDB ID : 4HLA)

Hasil deteksi tempat berinteraksi antara ligan dan reseptor (*cavity*) pada reseptor Protease (4HLA) ditunjukkan dengan Gambar 4. *Cavity* yang digunakan adalah pada volume 92.16 dengan luas permukaan 323.84. *Cavity* ini digunakan karena memiliki area dimana ligan asal berinteraksi dengan dengan enzim protease.



**GAMBAR 4.** Cavity [Volume=92.16].

Pada interaksi antara ligan dan reseptor terdapat interaksi ligan dengan beberapa asam amino residu dari reseptor Protease (4HLA). Asam-asam amino yang terlibat pada proses interaksi senyawa gendarusin dengan reseptor Protease (4HLA) dapat dilihat pada Tabel 2 dan Tabel 3. Interaksi dari residu asam amino reseptor Protease dengan senyawa terjadi melalui ikatan hidrogen maupun ikatan sterik, dari tabel tersebut dapat dilihat perbedaan interaksi antara masing-masing senyawa gendarusin dengan reseptor Protease (4HLA), hal tersebut karena ada perbedaan konfigurasi ruang dari struktur senyawa-senyawa gendarusin.

**TABEL 2.** Interaksi Ikatan Hidrogen Reseptor Protease HIV-1 (4HLA) dengan Senyawa Gendarusin.

Asam Amino	Da	GA	GB	GC	GD	GE
Asp29	+	+	-	-	+	-
Asp30	+	+	+	+	+	+
Gly51	-	+	-	+	-	-
Gly27	-	-	+	+	-	-
Thr80	-	-	+	-	-	-
Asp25	-	-	-	+	-	-
Ile50	-	-	-	+	-	+
Gly48	-	-	-	-	+	+
Gly49	-	-	-	-	+	-
Gly52	-	-	-	-	+	-

Hasil skor doking dari senyawa gendarusin dengan reseptor Protease (4HLA) (Tabel 4), terlihat bahwa urutan nilai *rerank score* dari senyawa gendarusin dari rendah ke tinggi adalah gendarusin B > gendarusin D > gendarusin C > gendarusin E > gendarusin A. *Rerank score* merupakan nilai yang mencerminkan energi ikatan yang dibutuhkan untuk membentuk ikatan antara ligan dan reseptor, sehingga dari nilai tersebut dapat diprediksi aktivitas dari suatu

senyawa. Semakin rendah nilai *rerank score* maka ikatan antara ligan dan reseptor juga akan semakin stabil sehingga aktivitasnya juga dapat dikatakan semakin tinggi dibandingkan dengan senyawa yang mempunyai nilai *rerank score* lebih tinggi. Hasil simulasi doking diatas dapat diprediksi bahwa gendarusin B memiliki aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan gendarusin lainnya.

**TABEL 3.** Interaksi Ikatan Sterik Reseptor Protease HIV-1 (4HLA) dengan Senyawa Gendarusin

Asam Amino	Da	GA	GB	GC	GD	GE
Asp29	+	+	+	+	+	-
Asp30	+	+	+	+	+	+
Gly51	-	+	-	+	-	-
Gly27	-	-	+	+	+	+
Thr80	+	-	+	-	-	-
Asp25	-	+	-	+	-	-
Ile50	-	+	-	+	+	+
Gly48	+	+	+	+	+	+
Gly49	+	+	-	-	+	+
Gly52	-	-	-	-	+	-
Val82	+	-	-	-	-	-
Ile54	+	+	+	-	+	-
Phe53	-	+	-	-	+	-
Ile47	-	-	+	-	+	+
Pro81	-	-	-	+	-	-

Keterangan :

Da : Darunavir; GA : Gendarusin A; GB : Gendarusin B; GC : Gendarusin C; GD : Gendarusin D; GE : Gendarusin E.

**TABEL 4.** Nilai *rerank score* Darunavir dan Gendarusin

Senyawa	<i>Rerank Score</i>
Darunavir	-86.6954
Gendarusin A	-90.4079
Gendarusin B	-102.706
Gendarusin C	-96.1779
Gendarusin D	-96.585
Gendarusin E	-96.0895

## KESIMPULAN

Hasil studi *in silico* didapatkan bahwa gendarusin A, B, C, D, dan E memiliki aktivitas sebagai Protease inhibitor HIV-1, dengan aktivitas paling tinggi adalah gendarusin B. Senyawa gendarusin juga memiliki bioavailabilitas oral yang baik dan tidak toksik, sehingga berpotensi dikembangkan sebagai anti-HIV.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Prof. Dr. Siswando, Apt.,MS. dari Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang mempunyai lisensi *software* Molegro.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Chakravarty, AK., Dastiar, PPG., and Pakrashi, SC. 1982. Simple Aromatic Amines from *Justicia gendarussa* <sup>13</sup>C NMR Spectra of the Bases and Their Analogues. *Tetrahedron*, 18(12): 1797-1802.
- Egan W.J, Merz K.M. Jr., and Baldwin J.J. 2000. Prediction of Drug Absorption Using Multivariate Statistics. *J. Med. Chem*, 43: 3867-3877.
- Kiren, Y., Deguchi, J., Hirasawa, Y., Morita, H., and Prajogo, B. 2014. Justodrusamides A-D, new 2-aminobenzyl Alcohol Derivatives from *Justicia gendarussa*. *Journal of Natural Medicines*.
- Ko, Y-J., Oh, H-J., Ahn, H-M., Kang, H-J., Kim, J-H., and Ko, YH. 2009. Flavonoids as Potential Inhibitors of Retroviral Enzymes. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem*, 52(4): 321-326.
- Markus H.J. Seifert, Kristina Wolf, and Daniel Vitt, 2003. Virtual high-throughput *in silico* screening. *Biosilico*, 1(4).
- Pattman R., Snow M., Handy P., Sankar K. N., and Elawad B., 2005. *Oxford Handbook of Genitourinary Medicine, HIV, and Aids*, 1st Edition. Oxford University Press, pp. 346-359.
- Prajogo, B. 2014. *Autentik Tanaman Justicia gendarussa* Burm. f. *Sebagai Bahan Baku Obat Kontrasepsi Pria*. Surabaya: Airlangga University Press dengan LP3 UNAIR.
- Prajogo, B., Guliet, D., Queiroz, F, Wolfernder, J-L., Cholies, N., Aucky, H., and Hostettmann, K. 2009. Isolation of Male Antifertility Compound in n-Butanol Fraction of *Justicia gendarussa* Burm.f. Leaves. *Folia Medica Indonesiana*, 45(1): 28-31.
- Prajogo, B., Widiyanti, P., and Riza, H. 2014. Effect of Ethanolic Extract of *Justicia gendarussa* Burm f. Against Activity of Reverse Transcriptase HIV Enzyme In Vitro. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, 8(6): 384-388.
- Veljkovic, V., Mouscadet, J-F., Veljkovic, N., Glisic, S., and Debysler, Z. 2007. Simple Criterion for Selection of Flavonoid Compounds With Anti-HIV Activity. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 17: 1226-1232.
- Widiyanti P., Prajogo B., and Hikmawanti N.P.E. 2015. Cytotoxicity of *Justicia gendarussa* Burm.f. Leaf Extracts on MOLT-4 Cell. *Indonesian Journal of Tropical and Infectious Disease*, 5(7): 188-192.
- Siswandono, 2011. Studi pemodelan molekul interaksi beberapa turunan penisilin dengan reseptor DD-Transpeptidase dari streptomyces R61 (1PWC), *Majalah Farmasi Airlangga*, 9(2).
- Veber D.F., Johnson S.R., Cheng H.Y., Smith B.R., Ward K.W., and Kopple K.D. 2002. Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. *J. Med. Chem.* 45: 2615-2623.
- Yanuar A., Mun'im A.Lagho A.B.A., Syahdi R.R., Rahmat M., and Suhartanto H. 2011. Medicinal Plants Database and Three Dimensional Structure of the Chemical Compounds from Medicinal Plants in Indonesia. *International Journal of Computer Science Issues*, 8(5).