

Uji Aktivitas Senyawa Apigenin dan Turunannya terhadap Reseptor Beta-1 Adrenergik sebagai Antihipertensi secara *In Silico*

Viola Marillia & Bertha Rusdi & Taufik Muhammad Fakhri

Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Bandung, Indonesia

email: viomarillia@gmail.com, bertha.rusdi@unisba.ac.id, taufikmuhammadf@gmail.com

ABSTRACT: Hypertension is a degenerative disease with high prevalence among elderly in Indonesia. Hypertension can be treated by compounds that block beta-1 adrenergic receptor. Apigenin, which is found in celery, could lower blood pressure in rats. Its antihypertensive activity was estimated due to blocking beta-1 adrenergic receptors. In this *in silico* study, apigenin and its derivatives were docked on beta-1 adrenergic receptor with molecular docking method to specify their affinity to the receptor. In addition to that, the physicochemistry, pharmacophore and toxicity of the compounds were also determined. The study result showed that the lipophilicity molar refractivity, and molecular mass of apigenin, apigenin 7-O- β -D-glucopyranoside, apigenin 7-O-(6-O-acetyl- β -D-glucopyranoside, apigenin 7-O- β -D-glucuronide, 7-O-methyl-apigenin, 4-O-methyl-apigenin, apigenin-8-C-glucoside meet the criteria of Lipinski's Rule of Five, which means all compounds would absorb and distribute well in the body. The results of a molecular docking study revealed that apigenin and its derivatives had good affinity on beta-1 adrenergic receptor. The compound that had the best affinity was apigenin 7-O-(6-O-acetyl- β -D-glucopyranoside with concentration inhibition of 0,04033 μ molar and binding energy of -10,09 kcal/mol. This study also identified benzene, alcohol, and heteroaromatic as pharmacophore groups of apigenin and its derivatives. Toxicity study showed that all compounds were in class III which means that at high concentrations the compound might exhibit toxicity. However all compounds were neither carcinogenic nor mutagenic.

Keywords: Hypertension, Apigenin, Beta-1 Adrenergic

ABSTRAK: Hipertensi adalah salah satu penyakit degeneratif dengan prevalensi tinggi di Indonesia, terutama pada pasien dengan usia di atas 40 tahun. Terapi hipertensi dapat dilakukan dengan beberapa golongan obat. Salah satu target pengobatan hipertensi adalah reseptor beta-1 adrenergik. Apigenin adalah senyawa yang ditemukan pada seledri dan diketahui dapat menurunkan tekanan darah pada tikus jantan. Hal ini dikarenakan senyawa apigenin diduga memiliki aktivitas hipertensi dengan mekanisme memblok reseptor beta-1 adrenergik. Pada penelitian ini dilakukan pengujian senyawa apigenin dan turunannya terhadap reseptor beta-1 adrenergik dengan menggunakan metode penambatan molekuler secara *in silico*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui parameter fisikokimia, afinitas, farmakofor dan toksisitas senyawa turunan apigenin terhadap reseptor beta-1 adrenergik secara *in silico*. Hasil penentuan parameter fisika kimia menunjukkan bahwa lipofilisitas dan berat molekul senyawa apigenin, apigenin 7-O- β -D-glucopyranoside, apigenin 7-O-(6-O-acetyl- β -D-glucopyranoside, apigenin 7-O- β -D-glucuronide, 7-O-methyl-apigenin, 4-O-methyl-apigenin, apigenin-8-C-glucoside memenuhi persyaratan Lipinski's Rule of Five yang artinya senyawa ini memiliki kemampuan absorpsi yang baik. Hasil dari penambatan molekuler yaitu seluruh senyawa turunan apigenin memiliki afinitas terhadap reseptor beta-1 adrenergik. Senyawa yang memiliki afinitas paling baik adalah senyawa apigenin 7-O-(6-O-acetyl- β -D-glucopyranoside dengan nilai energi bebas ikatan -10,09 kkal/mol dan konstanta inhibisi 0,04033 μ molar. Identifikasi gugus farmakofor dari senyawa uji dan ligan alami menunjukkan gugus benzen, alkohol, dan heteroaromatik berperan sebagai gugus farmakofor. Data toksisitas yang diperoleh adalah seluruh senyawa uji termasuk ke dalam toksisitas kelas III yang artinya pada konsentrasi yang tinggi tidak dijamin keamanan dalam penggunaannya. Kemudian seluruh senyawa uji tidak bersifat karsinogenik maupun mutagenik.

Kata Kunci: Hipertensi, Apigenin, Beta-1 Adrenergik

1 PENDAHULUAN

Hipertensi merupakan suatu keadaan peningkatan tekanan darah arteri yang persisten. Pada umumnya, peningkatan tekanan darah pada penderita hipertensi yaitu sistolik ≥ 140 mmHg dan diastolik ≥ 90 mmHg (Naqiyya, 2020). Berdasarkan data RISKESDAS 2018, prevalensi hipertensi turut meningkat seiring dengan bertambahnya usia. Prevalensi hipertensi pada usia 18-24 tahun sebesar 13,2%, usia 25-34 tahun sebesar 20,1%, usia 35-44 tahun sebesar 31,6%,

usia 45-54 tahun sebesar 45,3%, usia 55-64 tahun sebesar 55,2%, usia 65-74 tahun sebesar 63,2% dan usia lebih dari 75 tahun sebesar 69,5% (Risksdas, 2018).

Salah satu target obat yang dapat menurunkan tekanan darah adalah reseptor beta-1 adrenergik. Reseptor beta-1 adrenergik terdapat pada node sinoatrial, nodus atrioventrikular, dan miokardium (Leksana, 2011). Aktivasi target reseptor beta-1 di jantung adalah meningkatkan nodus sinoatrial, nodus atrioventrikular, dan kerja otot ventrikel

sehingga dapat meningkatkan kontraktilitas dan denyut jantung. Saat kontraktilitas dan denyut jantung meningkat, stroke volume dan curah jantung juga akan meningkat sehingga tekanan darah juga akan meningkat (Alhayek and Preuss, 2020). Maka memblok kerja reseptor beta adrenergik dapat dijadikan sebagai pengobatan hipertensi sistemik disertai dengan gagal jantung, penyakit jantung iskemik, diseksi aorta, kardiomiopati, atau aritmia jantung tertentu, yaitu dengan cara menurunkan detak jantung, *cardiac output*, dan plasma volume, serta penghambatan pelepasan renin (Frishman, 2016).

Suatu penelitian menunjukkan pemberian sampel uji ekstrak etanol daun seledri mampu menurunkan tekanan darah pada tikus putih jantan (Nessa *et al.*, 2018). Efek penurun tekanan darah ini karena adanya flavonoid yang terkandung pada ekstrak etanol daun seledri, yaitu apigenin dan apiin (Saputra and Fitria, 2016). Senyawa apigenin ini memiliki turunan senyawa, yang diantaranya yaitu apigenin 7-O- β -D-glucopyranoside, apigenin 7-O-(6-O-acetyl- β -D-glucopyranoside, apigenin 7-O- β -D-glucuronide, 7-O-methyl-apigenin, 4-O-methyl-apigenin, apigenin-8-C-glucoside, dan apigenin-6-C-glucoside (Salehi *et al.*, 2019). Senyawa apigenin dan turunannya ini dapat ditemukan pada tanaman seledri (*Apium graveolens*), kemangi hutan (*Ocimum sanctum*), kacang hijau (*Vigna radiata*) (Peng *et al.*, 2008).

Beberapa penelitian berhipotesa bahwa apigenin mampu menurunkan tekanan darah melalui mekanisme memblok reseptor beta sehingga menyebabkan detak jantung menjadi lambat dan kontraksi jantung menurun kemudian menyebabkan jumlah aliran darah yang dipompa menjadi lebih sedikit sehingga tekanan darah menurun (John and Nancy, 2005; Smeltzer, 2008).

Berdasarkan latar belakang tersebut di atas, maka pada penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas antihipertensi senyawa turunan apigenin terhadap reseptor beta-1 adrenergik secara *in silico* dengan metode *molecular docking*. Rumusan masalah dari penelitian ini yaitu bagaimana parameter sifat fisiko kimia dari senyawa apigenin dan turunannya terhadap aturan *Lipinski's Rule of Five*, bagaimana afinitas dan toksisitas senyawa turunan apigenin terhadap reseptor beta-1 adrenergik secara *in silico*, dan apa saja gugus farmakofor dari senyawa uji. Tujuan

dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui parameter sifat fisiko kimia dari senyawa apigenin dan turunannya terhadap aturan *Lipinski's Rule of Five*, mengetahui afinitas dan toksisitas senyawa turunan apigenin terhadap reseptor beta-1 adrenergik secara *in silico* dengan metode *molecular docking*, dan mengetahui gugus farmakofor dari senyawa uji. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai kemungkinan mekanisme aksi efek antihipertensi dari senyawa apigenin.

2 METODOLOGI

Pada penelitian ini dilakukan studi *in-silico* antara reseptor beta-1 adrenergik dan senyawa turunan apigenin yaitu apigenin, apigenin 7-O- β -D-glucopyranoside, apigenin 7-O-(6-O-acetyl- β -D-glucopyranoside, apigenin 7-O- β -D-glucuronide, 7-O-methyl-apigenin, 4-O-methyl-apigenin, apigenin-8-C-glucoside, dan apigenin-6-C-glucoside. Senyawa yang akan digunakan diambil dari website *pubmed* atau digambar menggunakan software ChemBioDraw 16.0 dan Chembio3D Ultra 16.0. Kemudian geometri turunan senyawa apigenin dioptimasi dengan menggunakan software GaussView 5.0.8 dan Gaussian 09 metode DFT basis set 3-21G.

Pengunduhan beta-1 adrenergik sebagai reseptor uji diunduh dari website Protein Data Bank, dengan kode PDB 2VT4. Setelah itu, molekul air pada struktur reseptor dihapus lalu dipisahkan preparasi pada protein dan ligan alami. Selanjutnya, dilakukan preparasi meliputi penambahan muatan parsial dan penambahan atom hidrogen.

Kemudian, metode docking reseptor uji divalidasi menggunakan software MGLTools 1.5.6 yang dilengkapi Autodock Tools 4.2. Lalu reseptor beta-1 adrenergik dan senyawa uji disimulasi docking menggunakan software MGLTools 1.5.6 dan Autodock Tools 4.2. Hasil docking dianalisis dengan menggunakan perangkat lunak Biovia discovery Studio Visualizer 2019. Selanjutnya dilakukan identifikasi gugus farmakofor menggunakan server PharmMapper.

Selanjutnya, dilakukan prediksi toksisitas dengan software Toxtree 3.1.0 dengan parameter yang digunakan adalah Cramer Rules, Kroes TTC decision tree, dan Benigni/Bossa rulabase.

3 PEMBAHASAN DAN DISKUSI

Pencarian Data Aktivitas Biologi

Pada tahap pertama, dilakukan pencarian data aktivitas biologi senyawa apigenin dan turunannya dari jurnal penelitian. Penelitian yang dilakukan oleh Nessa et al. (2018) menemukan bahwa ekstrak etanol daun seledri memiliki efek menurunkan tekanan darah pada tikus jantan. Aktivitas antihipertensi dari ekstrak etanol daun seledri ini dikarenakan ekstrak tersebut mengandung flavonoid yang sudah diisolasi menjadi apigenin dan apiin. Senyawa apigenin memiliki aktivitas sebagai antihipertensi karena dapat berfungsi sebagai beta bloker sehingga dapat menurunkan kecepatan detak jantung serta menurunkan kontraksi jantung dan menyebabkan jantung memompa darah lebih sedikit dan tekanan darah menjadi menurun (Saputra and Fitria, 2016). Oleh karena itu, reseptor yang akan diujikan pada penelitian ini adalah reseptor beta-1 adrenergik.

Penggambaran Struktur

Penggambaran struktur senyawa apigenin, apigenin 7-O- β -D-glucopyranoside, apigenin 7-O-(6-O-acetyl- β -D-glucopyranoside, apigenin 7-O- β -D-glucuronide, 7-O-methyl-apigenin, 4-O-methyl-apigenin, apigenin-8-C-glucoside, dan apigenin-6-C-glucoside menggunakan ChemDraw 16.0.

Koefisien Partisi (C log P)

Parameter C log P atau koefisien partisi menggambarkan lipofilisitas suatu zat sehingga menggambarkan kemampuan senyawa untuk dapat larut dalam minyak, lemak, lipid ataupun pelarut yang bersifat non-polar (Pollastri, 2010). Penetrasi suatu obat pada membran biologi ditentukan oleh kelarutan obat pada lipid, sehingga jika semakin obat tersebut semakin bersifat lipofilik maka akan semakin mudah untuk masuk ke dalam membran dan meningkatkan absorpsi obat. Data koefisien partisi ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Koefisien Partisi C log P

Nama Senyawa	C log P
Apigenin	2,90529
Apigenin 7-O- β -D-glucopyranoside	1,40891
Apigenin 7-O-(6-O-acetyl- β -D-glucopyranoside	2,20171
Apigenin 7-O- β -D-glucuronide	1,12156
7-O-methyl-apigenin	3,49136
4-O-methyl-apigenin	3,48625

Apigenin-8-C-glucoside	0,853993
Apigenin-6-C-glucoside	-0,772557

Dari hasil penelitian, menunjukkan senyawa apigenin, apigenin 7-O- β -D-glucopyranoside, apigenin 7-O-(6-O-acetyl- β -D-glucopyranoside, apigenin 7-O- β -D-glucuronide, 7-O-methyl-apigenin, 4-O-methyl-apigenin, apigenin-8-C-glucoside memiliki nilai lipofilisitas yang baik berdasarkan *Lipinski Rule of Five*, yaitu koefisien partisinya kurang dari 5 sehingga senyawa mudah terabsorpsi di dalam tubuh (Zhang and Wilkinson, 2007). Sedangkan senyawa apigenin-6-C-glucoside tidak memenuhi karena bersifat hidrofilik sehingga senyawa ini akan sulit diabsorpsi di dalam tubuh.

Refraktivitas Molar

Nilai refraktivitas molar menunjukkan sifat sterik senyawa dalam berinteraksi dengan reseptornya. Berdasarkan aturan *Lipinski Rule of Five*, nilai refraktivitas molar yang baik berada pada rentang 40-130 (Kumari and J. S. Rana, 2011).

Tabel 2. Refraktivitas Molar

Nama Senyawa	Refraktivitas Molar
Apigenin	73,51
Apigenin 7-O- β -D-glucopyranoside	107,46
Apigenin 7-O-(6-O-acetyl- β -D-glucopyranoside	121,69
Apigenin 7-O- β -D-glucuronide	111,34
7-O-methyl-apigenin	78,94
4-O-methyl-apigenin	78,94
Apigenin-8-C-glucoside	107,77
Apigenin-6-C-glucoside	141,04

Berdasarkan Tabel.2, nilai refraktivitas molar dari senyawa apigenin, apigenin 7-O- β -D-glucopyranoside, apigenin 7-O-(6-O-acetyl- β -D-glucopyranoside, apigenin 7-O- β -D-glucuronide, 7-O-methyl-apigenin, 4-O-methyl-apigenin, apigenin-8-C-glucoside memenuhi aturan Lipinski karena berada pada rentang 40-130. Artinya, ketujuh senyawa memiliki sifat sterik yang baik sehingga mudah berinteraksi dengan reseptor. Namun senyawa apigenin 6-C-glucoside memiliki nilai refraktivitas molar lebih besar dari rentang persyaratan, artinya senyawa ini memiliki efek sterik yang besar sehingga menghasilkan interaksi yang kurang baik dengan reseptornya.

Bobot Molekul

Bobot molekul berhubungan dengan proses distribusi obat melalui proses difusi. Pada lima

aturan Lipinski (*Lipinski's Rule of Five*), suatu senyawa dapat dijadikan sebagai senyawa obat jika memiliki bobot molekul kurang dari 500 Dalton (Zhang and Wilkinson, 2007). Senyawa yang memiliki bobot molekul lebih dari dari 500 Dalton akan cukup sulit untuk menembus membran, sedangkan senyawa obat yang memiliki bobot molekul lebih kecil akan lebih mudah menembus membran biologis (Ruswanto, 2014). Bobot molekul senyawa uji ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Bobot Molekul

Nama Senyawa	Bobot Molekul
Apigenin	270,24
Apigenin 7-O- β -D-glucopyranoside	432,38
Apigenin 7-O-(6-O-acetyl- β -D-glucopyranoside	490,46
Apigenin 7-O- β -D-glucuronide	462,41
7-O-methyl-apigenin	284,27
4-O-methyl-apigenin	284,27
Apigenin-8-C-glucoside	432,38
Apigenin-6-C-glucoside	594,52

Berdasarkan data bobot molekul senyawa uji pada Tabel 3, maka senyawa senyawa apigenin, apigenin 7-O- β -D-glucopyranoside, apigenin7-O-(6-O-acetyl- β -D-glucopyranoside, apigenin7-O- β -D-glucuronide, 7-O-methyl-apigenin, 4-O-methyl-apigenin, apigenin-8-C-glucoside memenuhi persyaratan lima aturan Lipinski karena memiliki bobot molekul kurang dari 500 Dalton sehingga ketujuh senyawa ini dapat melewati sel membran tubuh dengan baik. Sedangkan senyawa apigenin-6-C-glucoside tidak memenuhi aturan Lipinski karena bobot molekulnya lebih dari 500 Dalton, yaitu 594,52 Dalton.

Optimasi Geometri

Selanjutnya dilakukan optimasi geometri terhadap kedelapan senyawa uji menggunakan *software Gaussian 09* dan *GaussView 5.0.8* dengan metode *DFT basis 3-21G*. Tujuan dari optimasi geometri senyawa uji yaitu untuk memperoleh konformasi struktur yang paling baik berdasarkan nilai energi total (Darusman and Fakhri, 2020). Data nilai energi total ditunjukkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Optimasi Geometri

Nama Senyawa	Energi Total (kJ/mol)
Apigenin	-948,491

Apigenin 7-O- β -D-glucopyranoside	-1555,971
Apigenin 7-O-(6-O-acetyl- β -D-glucopyranoside	-16171,959
Apigenin 7-O- β -D-glucuronide	-1593,775
7-O-methyl-apigenin	-987,588
4-O-methyl-apigenin	-987,556
Apigenin-8-C-glucoside	-1555,868
Apigenin-6-C-glucoside	-1555,901

Preparasi Struktur Makromolekul

Pengunduhan struktur molekul beta-1 adrenergik dilakukan melalui laman Protein Data Bank dengan kode PDB 2VT4. Kemudian makromolekul beta-1 adrenergik dihapuskan molekul airnya agar moleku air tidak mengganggu saat proses docking. Setelah itu, dilakukan pemisahan antara ligan alami dengan makromolekul. Selanjutnya dilakukan penambahan atom hidrogen dan muatan parsial.

Validasi Metode Docking

Validasi metode docking dilakukan untuk memastikan bahwa metode yang akan digunakan sudah valid. Pada validasi ini ditentukan ukuran grid box, grid center, dan spacing yang ditunjukkan pada Tabel V.5. Parameter dari validasi docking ini adalah nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) yang dihasilkan dari penambatan antara ligan dengan reseptornya. Nilai RMSD ini menunjukkan jarak yang dihasilkan karena interaksi ligan alami dengan reseptornya. Metode dinyatakan valid jika memiliki RMSD kurang dari 2Å. Ukuran grid box yang digunakan adalah 56, 36, 36 sedangkan ukuran grid center 8,758; 21,69; 22,743 dengan spacing 0,375 Å

Nilai RMSD yang didapatkan dari hasil validasi adalah 0,82 Å. Artinya, metode ini dinyatakan valid dan dapat digunakan karena memiliki nilai RMSD kurang dari 2Å. Kemudian dari hasil validasi didapatkan juga energi ikatan antara ligan alami dengan reseptor yaitu -8,91 kcal/mol.

Simulasi Docking

Simulasi docking merupakan proses yang digunakan untuk memodelkan interaksi antara senyawa uji sebagai ligan dengan protein yang kemudian dapat mengkarakterisasi ligan pada situs pengikatan protein targetnya. Proses docking ini dapat melihat posisi ligan pada sisi aktif protein (Meng *et al.*, 2012). Simulasi docking senyawa uji dilakukan menggunakan *software MGLTools 1.5.6* yang telah dilengkapi *AutoDock 4.2*. Proses

docking ini menghasilkan energi ikatan dan konstanta inhibisi yang ditunjukkan pada Tabel 5. Nilai energi ikatan menunjukkan kekuatan ikatan antara ligan dengan reseptor, sedangkan nilai konstanta inhibisi menunjukkan kemampuan senyawa menghambat kerja reseptor sehingga kedua nilai ini dapat menunjukkan kestabilan konformasi struktur ligan dengan reseptor beta-1 adrenergik (Herman, 2019). Ligan yang memiliki energi ikatan yang rendah cenderung berada pada kondisi stabil dan interaksinya semakin stabil.

Tabel 5. Simulasi Docking

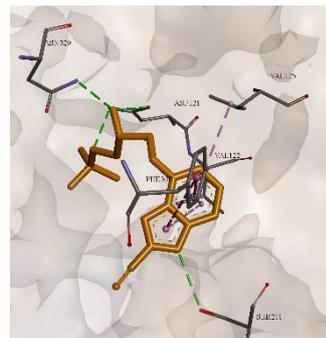
Nama Senyawa	ΔG (kcal/mol)	KI (μm)
Apigenin	-7,93	1,54
Apigenin 7-O- β -D-glucopyranoside	-8,96	0,27057
Apigenin 7-O-(6-O-acetyl- β -D-glucopyranoside)	-10,09	0,04033
Apigenin 7-O- β -D-glucuronide	-9,57	0,09742
7-O-methyl-apigenin	-7,87	1,70
4-O-methyl-apigenin	-7,58	2,78
Apigenin-8-C-glucoside	-9,23	0,17158
Apigenin-6-C-glucoside	-8,44	0,65538

Senyawa yang memiliki nilai energi bebas ikatan dan konstanta paling baik adalah senyawa nilai energi ikatan paling kecil yaitu Apigenin 7-O-(6-O-acetyl- β -D-glucopyranoside) dengan nilai energi ikatan -10,09 kkal/mol karena semakin negatif nilai energi ikatan artinya ikatannya semakin stabil dan senyawa dengan konstanta inhibisi paling kecil artinya dalam konsentrasi sedikit saja sudah dapat menghambat reseptor. Oleh karena itu, senyawa yang memiliki afinitas paling baik adalah senyawa apigenin 7-O-(6-O-acetyl- β -D-glucopyranoside).

Analisis Hasil Docking

Kemudian dilakukan analisis hasil docking dengan menggunakan *software BIOVIA Discovery Studio Visualizer 2019*. Analisis hasil docking meliputi pengamatan interaksi residu asam amino pada ligan alami dan senyawa uji dengan melakukan visualisasi terhadap ikatan pada ligan alami dan kedelapan senyawa tersebut dengan reseptor beta-1 adrenergik.

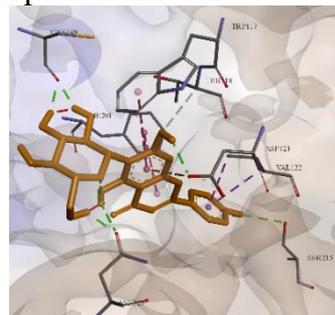
Hasil docking ligan alami terhadap reseptor ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Visualisasi ligan alami

Interaksi ini menghasilkan residu asam amino serine, asparagine, asam aspartat, phenylalanine, dan valine dengan interaksi yang terbentuk adalah ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik. Gugus fungsi yang berperan sebagai farmakofor dari ligan alami. Gugus fungsi ini terdiri dari pyrole, alkena (C=H), alkohol (C=OH).

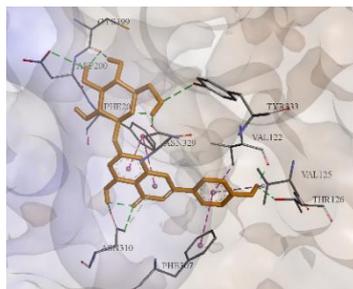
Hasil visualisasi ikatan antara senyawa apigenin dan reseptor beta-1 adrenergik digambarkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Visualisasi Apigenin

Apigenin membentuk ikatan dan menghasilkan residu asam amino serin, asparagin, asam aspartat, alanin, threonine, dan phenylalanine dengan membentuk ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik. Gugus fungsi apigenin yang berperan sebagai farmakofor adalah gugus benzen, eter (C-O), dan dua pada gugus alkana (C-C).

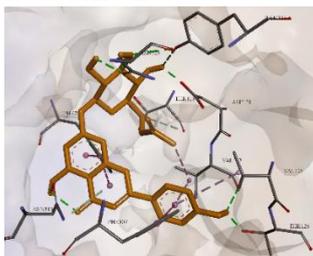
Hasil dari visualisasi ikatan antara senyawa apigenin 7-O- β -D-glucopyranoside dengan reseptor beta-1 adrenergik ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Visualisasi Apigenin 7-*O*-β-D-glucopyranoside

Hasil visualisasi tersebut menunjukkan senyawa apigenin 7-*O*-β-D-glucopyranoside dapat berikatan dengan asam amino asparagin, valin, threonine, dan phenylalanine dengan membentuk ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik. Gugus fungsi farmakofor tersebut terdiri dari gugus alkena (C=C), eter (C-O), benzen, dan keton (C=O).

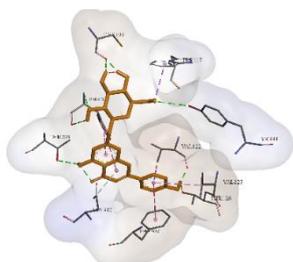
Visualisasi senyawa Apigenin 7-*O*-(6-*O*-acetyl-β-D glucopyranoside dengan reseptor ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Visualisasi Apigenin 7-*O*-(6-*O*-acetyl-β-D glucopyranoside

Senyawa Apigenin 7-*O*-(6-*O*-acetyl-β-D glucopyranoside dapat berikatan dengan asam amino tryptophan, asam aspartat, asparagin, valin, threonine, dan phenylalanine dengan membentuk ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik. Gugus fungsi farmakofor tersebut terdiri dari gugus alkena (C=C), eter (C-O), benzen, dan keton (C=O).

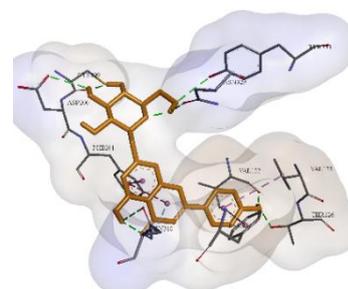
Hasil dari visualisasi senyawa apigenin 7-*O*-β-D-glucoronide dengan reseptor ditunjukkan Gambar 5.



Gambar 5. Visualisasi Apigenin 7-*O*-β-D-glucoronide

Dari hasil visualisasi tersebut, senyawa Apigenin 7-*O*-β-D-glucoronide dapat berikatan dengan asam amino phenylalanine, tyrosine, cysteine, phenylalanine, threonine, valin, asparagine, dan tryptophan dengan membentuk ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik. Gugus fungsi yang berperan sebagai farmakofor dari senyawa apigenin 7-*O*-β-D-glucoronide adalah dua gugus alkohol (C-OH) dan gugus benzen.

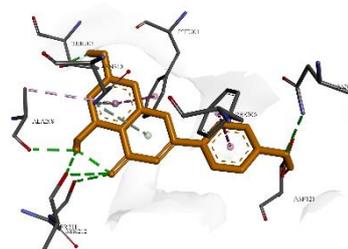
Visualisasi interaksi senyawa 7-*O*-methyl-apigenin dengan reseptor ditunjukkan Gambar 6.



Gambar 6. Visualisasi 7-*O*-methyl-apigenin

Senyawa 7-*O*-methyl-apigenin berikatan dengan asam amino threonine, asparagine, asam aspartat, tyrosine, cysteine, valin, phenylalanine, dan tryptophan dengan membentuk ikatan hidrogen, interaksi elektrostatis dan interaksi hidrofobik. Gugus fungsi yang berperan sebagai farmakofor dari senyawa 7-*O*-methyl-apigenin adalah benzen, keton (C=O), alkana (C-C), dan alkohol (C-OH).

Visualisasi hasil interaksi senyawa 4-*O*-methyl-apigenin dengan reseptor ditunjukkan Gambar 7.

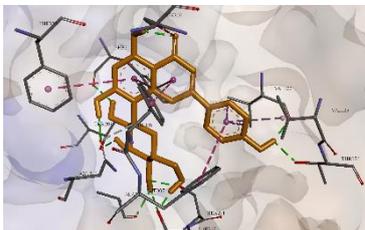


Gambar 7. Visualisasi 4-*O*-methyl-apigenin

Senyawa 4-*O*-methyl-apigenin membentuk ikatan dengan asam amino asparagine, threonine, asam aspartate, tyrosine, valin, phenylalanine, dan tryptophan dengan membentuk ikatan hidrogen, interaksi elektrostatis, dan interaksi hidrofobik. Gugus fungsi yang berperan sebagai farmakofor dari senyawa 4-*O*-methyl apigenin terdiri dari

benzen, dua gugus alkana (C-C), dan alkohol (C-OH).

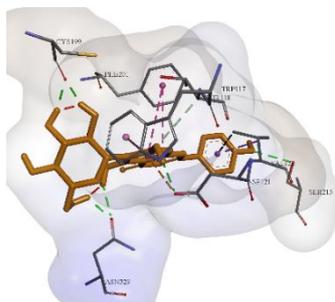
Visualisasi dari interaksi senyawa apigenin-8-C-glucoside dan reseptor ditunjukkan pada Gambar 8.



Gambar 8. Visualisasi Apigenin-8-C-glucoside

Senyawa apigenin-8-C-glucoside dapat berikatan dengan asam amino serin, alanine, threonine, phenylalanine, asparagin, dan valin dengan membentuk ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik. Gugus fungsi yang berperan sebagai farmakofor dari senyawa apigenin 8-glucoside tersebut terdiri dari benzen, dua gugus alkana (C-C), benzen, dan alkohol (C-OH).

Visualisasi interaksi senyawa apigenin-6-C-glucoside dan reseptor ditunjukkan pada Gambar 9.



Gambar 9. Visualisasi Apigenin-6-C-glucoside

Senyawa apigenin-6-C-glucoside dapat berikatan dengan asam amino serin, asparagin, cysteine, asam aspartate, threonine, valin, tryptophan, dan phenylalanine dengan membentuk ikatan hidrogen, interaksi elektrostatik, dan interaksi hidrofobik. gugus fungsi farmakofor dari senyawa apigenin 6-c-glucoside terdiri dari benzen, alkohol (c-oh), dan dua gugus alkana (C=C).

Berdasarkan visualisasi dari ligan alami dan delapan senyawa uji, gugus fungsi yang paling banyak berinteraksi dengan reseptor atau berperan sebagai farmakofor adalah gugus alkohol, benzen, dan heterosiklik. Jika dilihat dari farmakofornya, senyawa apigenin 7-O-(6-O-acetyl-β-D-glucopyranoside) memiliki gugus farmakofor paling banyak dibandingkan dengan senyawa uji

lainnya sehingga menyebabkan senyawa ini memiliki efek inhibisi yang lebih besar dibanding dengan senyawa uji lainnya.

Prediksi Toksisitas

Prediksi toksisitas senyawa uji dilakukan untuk memprediksi sifat toksisitas senyawa yang akan dijadikan sebagai kandidat obat. Perangkat lunak yang digunakan untuk memprediksi toksisitas adalah *Toxtree* 2.6.0. Parameter dari prediksi toksisitas ini meliputi parameter *Cramer Rules*, *Benigni*, dan *Kroes TCC*. Parameter *Cramer Rules* adalah prediksi tingkat toksisitas yang dilihat dari gugus fungsinya yang kemudian senyawa ditempatkan ke dalam salah satu dari tiga kelas toksisitas (Patlewicz *et al.*, 2008). Gugus fungsi yang diduga dapat meningkatkan toksisitas adalah senyawa heteroaromatik (Ruswanto, 2014). Parameter *Benigni/Bossa rule based* adalah memprediksi apakah suatu senyawa dapat menyebabkan mutagenitas dan karsinogenitas (Benigni *et al.*, 2008). Parameter *Kroes TCC* merupakan parameter untuk memprediksi ambang batas dari senyawa terhadap manusia (Pham, Borghoff and Thompson, 2020).

Berdasarkan data prediksi toksisitas *cramer rules*, seluruh senyawa uji termasuk toksisitas kelas III yang artinya penggunaan dengan konsentrasi tinggi tidak dijamin keamanannya. Contoh senyawa yang dapat mempengaruhi senyawa masuk ke dalam toksisitas kelas III ini adalah senyawa heterosiklik dan zat heteroaromatik. Pada senyawa apigenin dan turunannya terdapat gugus heterosiklik dan heteroaromatik sehingga mempengaruhi kelas toksisitas senyawa dan masuk ke dalam toksisitas kelas III. Kemudian jika dilihat dari parameter *Kroes TCC*, kedelapan senyawa uji tidak mengandung asupan yang melebihi ambang batas paparan pada manusia. Jika dilihat dari parameter *Benigni/Bossa Rule Based*, kedelapan senyawa uji diprediksi tidak menimbulkan karsinogenisitas dan mutagenisitas.

4 KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat disimpulkan bahwa apigenin, apigenin 7-O-β-D-glucopyranoside, apigenin 7-O-(6-O-acetyl-β-D-glucopyranoside, apigenin 7-O-β-D-glucuronide, 7-O-methyl-apigenin, 4-O-methyl-apigenin, apigenin-8-C-glucoside memenuhi Lipinski's *Rule*

of Five pada parameter C log P, refraktivitas molar, dan bobot molekul yang artinya senyawa ini memiliki kemampuan absorpsi yang baik. Kemudian seluruh senyawa uji tersebut juga memiliki afinitas terhadap reseptor beta-1 adrenergik. Senyawa uji yang memiliki afinitas dan kekuatan ikatan paling baik terhadap reseptor beta-1 adrenergik adalah senyawa apigenin 7-O-(6-O-acetyl- β -D-glucopyranoside) karena memiliki nilai konstanta inhibisi dan energi bebas ikatan paling kecil dibandingkan dengan senyawa lainnya, yaitu nilai konstanta inhibisinya adalah 0,04033 μ m dan nilai energi bebas ikatannya yaitu -10,09 kkal/mol. Kemudian gugus fungsi yang berperan sebagai gugus farmakofor adalah gugus benzen, alkohol, dan heteroaromatik. Apabila dilihat dari toksisitasnya, kedelapan senyawa uji berada pada toksisitas kelas III yang artinya pada konsentrasi yang tinggi tidak dijamin keamanan dalam penggunaannya dan tidak bersifat karsinogenik maupun mutagenik.

ACKNOWLEDGE

Berisi ucapan terima kasih telah terlaksananya penelitian Anda

DAFTAR PUSTAKA

- Alhayek, S. and Preuss, C. (2020) *Beta 1 Receptors*. Stat Pearls. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532904/>.
- Ali, F. *et al.* (2017) 'Health functionality of apigenin: A review', *International Journal of Food Properties*, 20(6), pp. 1197–1238. doi: 10.1080/10942912.2016.1207188.
- Barret, R. (2018) 'Lipinski's Rule of Five', *Therapeutical Chemistry*.
- Benigni, R. *et al.* (2008) 'The Benigni / Bossa rulebase for mutagenicity and carcinogenicity – a module of Toxtree', *Health San Francisco*, (May 2014). Available at: http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_labs/computational_toxicology/doc/EUR_23241_EN.pdf.
- Bristow (2000) 'Mechanistic and Clinical Rationales for Using Beta-Blockers in Heart Failure', *J Card Fail*, 6, pp. 8–14.
- Darusman, F. and Fakhri, T. M. (2020) 'Studi Interaksi Senyawa Turunan Saponin dari Daun Bidara Arab (*Ziziphus spina-christi* L.) sebagai Antiseptik Alami secara In Silico', *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 7(3), p. 233. doi: 10.25077/jsfk.7.3.233-239.2020.
- Engelhardt *et al.* (2002) 'Inhibition of Na(+)-H(+) Exchange Prevents Hypertrophy, Fibrosis, and Heart Failure in Beta(1)-Adrenergic Receptor Transgenic Mice', *Circ Res*, 90(814), p. 9.
- Fan, J., Fu, A. and Zhang, L. (2019) 'Progress in molecular docking', *Quantitative Biology*, 7(2), pp. 83–89. doi: 10.1007/s40484-019-0172-y.
- Frishman, W. H. (2016) 'Beta-Adrenergic Receptor Blockers in Hypertension: Alive and Well', *Progress in Cardiovascular Diseases*, 59(3), pp. 247–252. doi: 10.1016/j.pcad.2016.10.005.
- Fu, C. *et al.* (2008) 'Association of Beta (1)-Adrenergic Receptor Gene Polymorphisms with Left Ventricular Hypertrophy in Human Essential Hypertension', *Clinical Biochemistry*, 41(10–11), pp. 773–778. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2008.02.002.
- Ganesan, K. and Xu, B. (2018) 'A critical review on phytochemical profile and health promoting effects of mung bean (*Vigna radiata*)', *Food Science and Human Wellness*, 7(1), pp. 11–33. doi: 10.1016/j.fshw.2017.11.002.
- Giles, T. D. *et al.* (2009) 'Definition and classification of hypertension: An update', *Journal of Clinical Hypertension*, 11(11), pp. 611–614. doi: 10.1111/j.1751-7176.2009.00179.x.
- Ginwala, R. *et al.* (2019) 'Potential role of flavonoids in treating chronic inflammatory diseases with a special focus on the anti-inflammatory activity of apigenin', *Antioxidants*, 8(2), pp. 1–30. doi: 10.3390/antiox8020035.
- Gunardi *et al.* (2009) 'Metode RPTLC dan Optimasi Fase Gerak Dalam Penetapan Harga Rm Sebagai Salah Satu Parameter Lipofilisitas Dalam Rancangan Obat', *Pemberian Cairan Karbohidrat Elektrolit, Status Hidrasi dan Kelelahan pada Pekerja Wanita*, 43, pp. 254–259.

- Gupta, P. *et al.* (2007) 'Constituents of *Ocimum sanctum* with antistress activity', *Journal of Natural Products*, 70(9), pp. 1410–1416. doi: 10.1021/np0700164.
- Hostetler, G. L., Ralston, R. A. and Schwartz, S. J. (2017) 'Flavones: Food Sources, Bioavailability, Metabolism, and Bioactivity', *Adv. Nutr.*, 8, pp. 423–435.
- John and Nancy (2005) *Senyawa-Senyawa Sntihipertensi dan Terapi Obat Hipertensi dalam Goodman and Gilman, Editor. The Pharmacological Basis and Therapeutics*. Jakarta: EGC.
- Kahl, G. (2015) 'Molecular docking', *The Dictionary of Genomics, Transcriptomics and Proteomics*, 443, pp. 1–1. doi: 10.1002/9783527678679.dg07851.
- Lauralee (2014) *Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem*. 8th edn. Jakarta: EGC.
- Lee, H. *et al.* (2015) 'Biosynthesis of Two Flavones, Apigenin and Genkwanin, in *Escherichia coli*', *J. Microbiol Biotechnocol*, 25, pp. 1442–1448.
- Leksana, E. (2011) 'Pengelolaan Hemodinamik', *Jurnal CDK 188 Volume 38 Nomer 7. Bagian Anestesi dan Terapi Intensif RSUP dr. Kariadi/ Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang, Indonesia*, 38(7), pp. 537–540. Available at: <http://www.kalbemed.com/>.
- Lipinski, C. *et al.* (1997) 'Experimental and Computational Approches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery and Development Settings', *Adv. Drug Deliv*, 23.
- Longo, D. *et al.* (2011) *Horrison's Principles of Internal Medicine*. 18th edn. New York: Mc. Graw Hill.
- Mahajan, N. *et al.* (2013) 'A phytopharmacological overview on *Ocimum* species with special emphasis on *Ocimum sanctum*', *Biomedicine and Preventive Nutrition*, 3(2), pp. 185–192. doi: 10.1016/j.bionut.2012.08.002.
- Meng, X.-Y. *et al.* (2012) 'Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery', *Current Computer Aided-Drug Design*, 7(2), pp. 146–157. doi: 10.2174/157340911795677602.
- Naqiyya, N. (2020) 'Potensi Seledri (*Apium Graveolens* L.) Sebagai Antihipertensi', *Jurnal Stikes*, 2(2), pp. 160–166.
- Nessa *et al.* (2018) 'Uji Efek Antihipertensi Ekstrak Etanol Daun Seledri (*Apium graveolens* L.) Pada Tikus Putih Jantan Diindiksi Pednison dan NaCl', *Jurnal Akademi Farmasi Prayoga*, 3(1), pp. 1–9.
- Pagadala, N. S., Syed, K. and Tuszynski, J. (2017) 'Software for molecular docking: a review', *Biophysical Reviews*, 9(2), pp. 91–102. doi: 10.1007/s12551-016-0247-1.
- Patlewicz, G. *et al.* (2008) 'An evaluation of the implementation of the Cramer classification scheme in the Toxtree software', *SAR and QSAR in Environmental Research*, 19(5–6), pp. 495–524. doi: 10.1080/10629360802083871.
- Peng, X. *et al.* (2008) 'Inhibitory effect of mung bean extract and its constituents vitexin and isovitexin on the formation of advanced glycation endproducts', *Food Chemistry*, 106(2), pp. 475–481. doi: 10.1016/j.foodchem.2007.06.016.
- PERKI, P. D. S. K. I. (2015) *Pedoman Tatalaksana Hipertensi Pada Penyakit Kardiovaskular*. Pertama. Jakarta: PERKI Indonesian Heart Association.
- Pham, L. L., Borghoff, S. J. and Thompson, C. M. (2020) 'Comparison of threshold of toxicological concern (TTC) values to oral reference dose (RfD) values', *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 113(October 2019). doi: 10.1016/j.yrtph.2020.104651.
- Pollastri, M. P. (2010) 'Overview on the rule of five', *Current Protocols in Pharmacology*, (SUPPL. 49), pp. 1–8. doi: 10.1002/0471141755.ph0912s49.
- Riskesdas, K. (2018) 'Hasil Utama Riset Kesehata Dasar (RISKESDAS)', *Journal of Physics A: Mathematical and Theoretical*, 44(8), pp. 1–200. doi: 10.1088/1751-8113/44/8/085201.
- Salehi, B. *et al.* (2019) 'The therapeutic potential of Apigenin', *International Journal of Molecular Sciences*, 20(6). doi: 10.3390/ijms20061305.
- Saputra, O. and Fitria, T. (2016) 'Khasiat Daun Seledri (*Apium graveolens*) Terhadap Tekanan Darah Tinggi Pada Pasien Hiperkolestrolemia', *Majority*, 5(April), pp. 1–6.

- Setiati, S., Alwi, I., Sudoyo A. W., Simadibrata, M. (2017) *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Jakarta: Interna Publishing.
- Shukla, S. and Gupta, S. (2010) 'Apigenin: A promising molecule for cancer prevention', *Pharmaceutical Research*, 27(6), pp. 962–978. doi: 10.1007/s11095-010-0089-7.
- Smeltzer, B. (2008) *Medical Surgical Nursing*. Philadelphia: Lippincott William & Wilkins.
- Staessen, J. A. *et al.* (2003) 'Essential hypertension', *Lancet*, 361(9369), pp. 1629–1641. doi: 10.1016/S0140-6736(03)13302-8.
- Tedjasukmana, P. (2012) 'Tata Laksana Hipertensi', *CDK-192*, 39(4), pp. 251–255.
- Thomsen, R. and Christensen, M. (2006) 'MolDock: A New Technique for High-Accuracy Molecular Docking', *J. Med. Chem*, 49, pp. 3315–3321.
- Warne, T. *et al.* (2008) 'Structure of a β 1-adrenergic G-protein-coupled receptor', *Nature*, 454(7203), pp. 486–491. doi: 10.1038/nature07101.
- Yan, J. *et al.* (2014) 'Apigenin Accumulation and Expression Analysis of Apigenin Biosynthesis Relative Genes in Celery', *Scientia Horticulturae*, 165, pp. 218–224.
- Yulanda, G. and Lisiswanti, R. (2017) 'Penatalaksanaan Hipertensi Primer', *Majority*, 6(1), pp. 25–33.
- Zhang, M. Q. and Wilkinson, B. (2007) 'Drug discovery beyond the "rule-of-five"', *Current Opinion in Biotechnology*, 18(6), pp. 478–488. doi: 10.1016/j.copbio.2007.10.005.
- Nuraeni Anisa Dwi, Lukmayani Yani, Kodir Reza Abdul. (2021). *Uji Aktivitas Antibakteri Propionibacterium acnes Ekstrak Etanol dan Fraksi Daun Karuk (Piper sarmetosum Roxb. Ex. Hunter) serta Analisis KLT Bioautografi*. Jurnal Riset Farmasi, 1(1), 9-15.