

Identifikasi Senyawa Aktif Pala (*Myristica fragrans*) sebagai Terapi Komplementer Antihipertensi melalui Penghambatan Reseptor ACE: Sebuah Studi Penambatan Molekuler

Identification of Active Compounds from Nutmeg (*Myristica fragrans*) as Complementary Antihypertensive Therapies Through ACE receptor Inhibition: A Molecular Docking Study

Muhammad Despriansyah Romadhan*, Putri Mahirah Afladhanti, Ni Made Dyah Gayatri

Program Studi Profesi Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Sriwijaya, Indonesia

*Email Korespondensi: mdespriansyahr@gmail.com

Abstrak

Hipertensi merupakan salah satu masalah kesehatan terbesar yang menjadi penyebab utama kematian di seluruh dunia. *Angiotensin converting enzyme inhibitor* (ACE-I) sebagai obat antihipertensi yang umum diketahui memiliki efek samping yang sering dikeluhkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa potensial yang berasal dari pala (*Myristica fragrans*) sebagai antihipertensi dengan menggunakan studi penambatan molekuler. Dua puluh tiga senyawa pala bersama dengan captopril digunakan dalam penelitian ini melalui pencarian literatur dan penyaringan daring. Senyawa dan obat pembanding diunduh melalui *PubChem* sementara reseptor target pada RCSB. *Swiss ADME*, *ProTox-II*, dan *admetLab* digunakan untuk mengevaluasi senyawa mirip obat dan memprediksi toksisitas senyawa. Senyawa dan captopril dilakukan penambatan molekuler pada reseptor target ACE menggunakan *Autodock tools 1.5.6* dan *Autodock Vina* serta visualisasi interaksi molekul dengan aplikasi *Discovery Studio v16*. Hasil penelitian menunjukkan seluruh senyawa memenuhi kriteria sebagai obat dan memiliki afinitas terhadap ACE. Catechin, beta-caryophyllene, dan alpha-bergamoten tidak toksik dan menunjukkan interaksi molekul yang kuat pada ACE dibanding dengan captopril dan senyawa lain dengan energi ikatan masing-masing -8,2, -7,3, -7,2 kkal/mol. Catechin, beta-caryophyllene, dan alpha-bergamoten berpotensi untuk dikembangkan sebagai ACE-I. Penelitian *in vitro* dan *in vivo* lebih lanjut diperlukan agar dapat dilakukan uji klinis.

Kata Kunci: Antihipertensi, *Myristica fragrans*, catechin, beta-caryophyllene, alpha-bergamotene

Abstract

Hypertension is one of the biggest health problems which is the main cause of death worldwide. Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor (ACE-I) as an antihypertensive drug that is commonly known has side effects that are often complained of. This study aims to identify potential compounds derived from nutmeg (*Myristica fragrans*) as antihypertensives using molecular docking studies. Twenty-three nutmeg compounds along with captopril were used in this study through a literature search and online screening. Compounds and comparative drugs were downloaded via PubChem while target receptors were on the RCSB. Swiss ADME, ProTox-II, and admetLab were used to evaluate drug-like compounds and predict toxicity. The compounds and comparative drugs, which is captopril, were conducted by molecular binding to the ACE target receptors using Autodock tools 1.5.6 and Autodock Vina and visualization of molecular interactions with the Discovery Studio v16 application. The results showed that all compounds met the criteria as drugs and had an affinity for ACE. Catechin, beta-caryophyllene, and alpha-bergamotene are not toxic and show strong molecular interactions in ACE compared to captopril and other compounds with binding energies of -8.2, -7.3, -7.2 kcal/mol, respectively. Catechin, beta-caryophyllene, and alpha-bergamotene have the potential to be developed as ACE-I. Further in vitro and in vivo studies are needed to allow for clinical trials.

Keywords: Antihypertensive, *Myristica fragrans*, catechin, beta-caryophyllene, alpha-bergamotene

Received: 06 February 2023

Accepted: 18 May 2023

DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v5i3.1737>



Copyright (c) 2023, Jurnal Sains dan Kesehatan (J. Sains Kes.).
Published by Faculty of Pharmacy, University of Mulawarman, Samarinda, Indonesia.
This is an Open Access article under the CC-BY-NC License.

How to Cite:

Romadhan, M.D., Afladhanti, P.M., Gayatri, N.M.D., 2023. Identifikasi Senyawa Aktif Pala (*Myristica fragrans*) sebagai Terapi Komplementer Antihipertensi melalui Penghambatan Reseptor ACE: Sebuah Studi Penambatan Molekuler. *J. Sains Kes.*, **5**(3). 339-349. DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v5i3.1737>

1 Pendahuluan

Hipertensi merupakan suatu kondisi yang diakibatkan oleh adanya gangguan keseimbangan hemodinamik pada sistem kardiovaskular dengan manifestasi klinis utama berupa tekanan darah tinggi yang abnormal [1]. Menurut JNC 7, hipertensi didefinisikan sebagai suatu tekanan darah sistolik ≥ 140 mmHg dan/atau tekanan darah diastolik ≥ 90 mmHg. Tingginya prevalensi hipertensi di seluruh

dunia menyebabkan penyakit ini menjadi suatu masalah kesehatan utama di masyarakat [2]. Diperkirakan sekitar 31,1% orang dewasa di seluruh dunia menderita hipertensi pada tahun 2020 [3]. Menurut Riskesdas 2018, prevalensi hipertensi di Indonesia mencapai 34,11% [4]. Selain itu, peningkatan tekanan darah masih menjadi penyebab utama kematian di dunia hingga saat ini, yaitu mencapai 10,4 juta kematian per tahun. Secara global, hipertensi

bertanggung jawab atas 13% dari total kematian [5]. Penyakit ini bersifat multifaktorial dan patofisiologinya tidak dapat dijelaskan hanya dengan satu mekanisme saja [1].

Patogenesis hipertensi berkaitan dengan *Angiotensin Converting Enzyme* (ACE). ACE merupakan suatu chloride and zinc dependent dipeptidyl carboxypeptidase, atau dikenal pula sebagai peptidyl-dipeptidase A, yang mengkatalisasi hidrolisis dekaeptida angiotensin I menjadi suatu vasopressor poten yaitu oktaeptida angiotensin II dengan menghilangkan dua asam amino karboksil terminal. Selain itu, ACE juga mendeaktivasi peptida vasodepressor bradikinin. ACE berperan penting dalam regulasi tekanan darah, keseimbangan cairan dan elektrolit, perkembangan sistem kardiovaskular, dan *remodelling* vaskular melalui perannya sebagai komponen bioaktif dari sistem renin-angiotensin dan sistem kallikrein-kinin [6].

Angiotensin converting enzyme inhibitor (ACE-I) merupakan obat antihipertensi yang sampai saat ini telah teruji aman dan digunakan secara luas. Terdapat berbagai jenis obat antihipertensi golongan ACE-I yang terdistribusi di Indonesia. Dari sekian jenis tersebut, captopril adalah antihipertensi golongan ACE-I yang paling banyak digunakan dalam pengobatan hipertensi hingga saat ini [7]. Captopril dan golongan ACE-I lainnya bekerja dengan menghambat pembentukan angiotensin II dari angiotensin I dan mencegah pemecahan bradikinin menjadi bentuk inaktif. Meskipun secara umum dapat ditoleransi dengan baik, efek samping ACE-I berupa batuk kering cukup sering dikeluhkan. Kondisi ini disebabkan karena adanya peningkatan aktivitas dan konsentrasi bradikinin [8]. Selain itu, ACE-I juga dilaporkan memiliki efek samping lainnya yang bervariasi dari derajat ringan hingga berat seperti sakit kepala, diare, pusing, lelah, angioedema, dan hiperkalemia. Gagal ginjal dan jantung juga dapat timbul pada penggunaan ACE-I, namun kondisi ini cukup jarang terjadi [9].

Pala (*Myristica fragrans*) merupakan salah satu rempah asli Indonesia yang terkenal di dunia sejak zaman Belanda. Tanaman asli pulau Banda ini memiliki sembilan macam spesies yang tersebar di berbagai daerah, seperti Sumatera, Jawa, Maluku, dan Irian. Namun dari

berbagai spesies tersebut, satu-satunya spesies marga *Myristica* yang secara luas telah dibudidayakan hanyalah *M. fragrans*. Spesies ini tidak hanya dibudidayakan di Indonesia, tetapi juga di Malaysia, India, dan Grenada [10].

Selain terkenal dalam dunia kuliner, pala juga kaya akan senyawa-senyawa bioaktif polifenol yang memiliki potensi efek antioksidan yang baik. Suatu studi analisis kualitatif fitokimia menyatakan bahwa terdapat beberapa senyawa aktif yang ditemukan pada biji *M. fragrans* seperti alkaloid, flavonoid, glikosida, dan tanin [11]. Studi lainnya yang dilakukan secara *in vitro* menyebutkan bahwa minyak esensial pala mengandung 4-terpineol, safrole, sabinene, alpha-pinene, dan delta-limonene yang merupakan turunan senyawa terpenoid [12].

Senyawa polifenol secara intensif telah diketahui memiliki bioaktivitas yang bermanfaat bagi kesehatan, seperti antiinflamasi, antikanker, antioksidan, antilipogenik, antimikrobal, antiviral, dan *metal-chelating* [12]. Namun, beberapa studi *in vitro* melaporkan bahwa senyawa-senyawa polifenol seperti flavonoid, terpenoid, tannin terhidrolisis, xanthon, procyanidin, dan turunan asam klorogenat (*caffeoylquinic acid*), juga memiliki aktivitas biologi sebagai penghambat ACE alami yang efektif [13].

Penggunaan berbagai bahan alami sebagai terapi terus dikembangkan hingga saat ini. Banyaknya efek samping yang dapat ditimbulkan dari penggunaan ACE-I menarik perhatian banyak peneliti untuk meneliti bahan-bahan alami sebagai alternatif antihipertensi [9]. Pala merupakan salah satu bahan alami yang aktivitas bioaktifnya banyak diteliti dalam bidang farmakologi. Namun belum ditemukan adanya penelitian mengenai potensi aktivitas senyawa bioaktif pada pala sebagai antihipertensi. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa pada biji pala yang berpotensi memiliki aktivitas bioaktif sebagai terapi antihipertensi komplementer melalui penghambatan reseptor ACE. Penelitian ini dilakukan dengan metode penambatan molekuler sehingga potensi bioaktivitas senyawa dalam biji pala terhadap reseptor ACE dapat diprediksi.

2 Metode Penelitian

2.1 Pemilihan Target Protein dan Ligan

Pada studi ini, kami menggunakan senyawa yang berasal dari *Myristica fragrans*. Senyawa yang dipilih pada studi ini berjumlah 23 senyawa yang terdiri dari alpha-bergamotene (Compound CID: 86608), alpha-phellandrene (Compound CID: 7460), alpha-pinene (Compound CID: 6654), alpha-terpinene (Compound CID: 7462), alpha-terpineol (Compound CID: 17100), alpha-terpinolene (Compound CID: 11463), beta-bisabolene (Compound CID: 10104370), beta-cadinene (Compound CID: 10657), beta-caryophyllene (Compound CID: 5281515), beta-ocimene (Compound CID: 18756), beta-pinene (Compound CID: 14896), bornyl acetate (Compound CID: 6448), camphene (Compound CID: 6616), catechin (Compound CID: 9064), eugenol (Compound CID: 3314), gamma-terpinene (Compound CID: 7461), limonene (Compound CID: 22311), linalool (Compound CID: 6549), methyleugenol (Compound CID: 7127), myrcene (Compound CID: 31253), myristicin (Compound CID: 4276), sabinene (Compound CID: 18818), dan safrole (Compound CID: 5144). Ligan dipilih melalui penyaringan daring berdasarkan penelitian sebelumnya yang diunduh dari <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>. Target protein yang digunakan pada studi ini yaitu ACE (PDB ID: 4UFA) yang diunduh dari <https://www.rcsb.org>. Selain itu, obat pembanding yang digunakan pada studi ini adalah captopril (Compound CID: 44093) yang diunduh dari <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>.

2.2 Prediksi Senyawa Mirip Obat dan Profil Toksisitas

Prediksi senyawa mirip obat dilakukan menggunakan *SwissADME*, sebuah alat situs prediksi gratis (<http://www.swissadme.ch/>) dengan mengikuti lima aturan Lipinski [14]. Prediksi profil toksisitas dilakukan dengan menggunakan alat prediksi toksisitas daring yaitu *ADMETlab* (<https://admet.scbdd.com/calcpred/index/>) untuk memprediksi *hERG blocker* (berkaitan dengan kardiotoksisitas) dan *ProTox-II* ([\[new.charite.de/II/index.php\]\(https://new.charite.de/II/index.php\)\) untuk memprediksi hepatotoksisitas, karsinogenisitas, mutagenisitas, sitotoksisitas, serta dosis letal 50 \(LD₅₀\) dan kelas toksisitas suatu senyawa \[15\].](https://tox-</p>
</div>
<div data-bbox=)

2.3 Preparasi Target Protein dan Senyawa Uji

Kami menggunakan perangkat lunak *Autodock* dan *Discovery Studio* untuk melakukan preparasi. Preparasi target protein dilakukan dengan menghilangkan molekul air, menambahkan atom hidrogen polar, dan menghilangkan struktur ligan alami. Setelah melakukan preparasi, kami menyimpan *file* dalam format *pdbqt*. Sedangkan preparasi ligan dilakukan dengan membuat semua ikatan menjadi dapat diputar seluruhnya kemudian disimpan *file* dalam format *pdbqt* [16].

2.4 Penambatan Molekular secara In Silico

Kami melakukan penambatan molekul menggunakan perangkat lunak *Autodock Vina*. Situs target protein ditetapkan dengan bantuan parameter *grid box* yang ditunjukkan pada Tabel 1. Afinitas pengikatan terbaik (nilai lebih negatif) dipilih dari serangkaian sembilan pose konformasi setelah dilakukannya penambatan. Ketiga senyawa yang menunjukkan hasil energi ikat terbaik dipilih untuk divisualisasikan interaksi molekulernya.

2.5 Analisis Visualisasi

Kami melakukan analisis visualisasi untuk menilai situs pengikatan ligan dan mengamati ikatan kimia yang terbentuk antara ligan dan target protein. Analisis visualisasi dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak *Discovery Studio* dan disajikan dalam bentuk 3D dan 2D. Tabel 1. Nilai koordinat dan ukuran *grid box*.

Tabel 1. Nilai Koordinat dan Ukuran *Grid Box*

ACE	
<i>Center</i> (Å)	
x	0,385
y	-0,63
z	-0,024
<i>Box dimension</i> (Å)	
x	80
y	98
z	106

3 Hasil dan Pembahasan

Aturan Lipinski digunakan untuk membantu membedakan antara senyawa mirip obat dan senyawa tidak mirip obat. Aturannya terdiri dari berat molekul kurang dari 500 Dalton (g/mol), jumlah akseptor ikatan-H kurang dari 10, jumlah donor ikatan-H kurang dari 5, LogP kurang dari 4,15 dengan pelanggaran tidak lebih dari dua pelanggaran [14]. Berdasarkan pada Aturan Lima Lipinski yang ditunjukkan pada Tabel 2, semua senyawa yang digunakan dalam penelitian ini telah memenuhi semua aturan Lipinski sehingga semua senyawa yang digunakan dalam penelitian ini dianggap sebagai senyawa mirip obat. Hasil prediksi profil toksisitas dapat dilihat pada Tabel 3. Dari 23 senyawa yang menjalani penyaringan daring, semua senyawa diprediksi tidak menimbulkan efek *hERG blocker*, mutagenisitas dan sitotoksitas meski dengan nilai probabilitas beragam. Myristicin diprediksi menimbulkan efek hepatotoksitas dengan skor konfidensial 0,69, sedangkan methyleugenol, myrcene, dan safrole diprediksi menimbulkan efek karsinogenisitas dengan skor konfidensial masing-masing 0,76, 0,70, dan 0,82. Sementara itu, dari segi prediksi nilai LD₅₀ dan kelas toksisitas berdasarkan *Globally Harmonized System* (GHS), sebagian besar senyawa tergolong dalam kelas V yang berarti dapat berbahaya bila tertelan dengan nilai LD₅₀ di antara 2000 hingga 5000 mg/kg. Catechin tergolong dalam kelas VI sehingga diprediksi tidak toksik bila tertelan dengan nilai LD₅₀ lebih dari 5000 mg/kg. Alpha-terpinene, eugenol, methyleugenol, myristicin, dan safrole diprediksi bersifat berbahaya bila tertelan dengan nilai LD₅₀ di antara 300 hingga 2000 mg/kg, menjadikan senyawa tersebut tergolong dalam kelas IV. Terakhir, beta-ocimene diprediksi beracun bila tertelan. Senyawa ini tergolong dalam kelas III dengan nilai LD₅₀

diantara 50 hingga 300 mg/kg [17], [18], [19]. Dengan demikian, hampir semua senyawa uji dalam pala diprediksi tidak menunjukkan aktivitas toksik berdasarkan aspek toksisitas yang diujikan.

3.1 Penambatan molekul secara in silico

Dalam penelitian ini, 23 senyawa pala dan captopril dipilih. Struktur kristal ACE juga digunakan untuk menentukan interaksi molekul dengan senyawa. Hasil penambatan pada penelitian ini disajikan pada Tabel 4. Captopril menunjukkan energi ikatan sebesar -6,7 kkal/mol. Selain itu, catechin, beta-caryophyllene, dan alpha-bergamoten adalah tiga senyawa yang memiliki energi ikatan tertinggi dengan nilai masing-masing -8,2, -7,3, dan -7,2 kkal/mol.

Energi ikatan (ΔG) merupakan parameter stabilitas konformasi antara ligan dan protein target. Ligan dan protein yang saling berinteraksi akan cenderung berada pada keadaan energi paling rendah, yang menyebabkan molekul berada pada keadaan stabil. Oleh karena itu, semakin rendah nilai G (semakin besar nilai negatif), semakin tinggi energi ikat antara ligan dan protein target [20]. Selain itu, Zafar *et al.* [21] menyatakan bahwa terdapat hubungan linier antara nilai konstanta penghambatan (K_i) dengan nilai energi ikatan. Dengan demikian, nilai energi ikatan dapat digunakan untuk memprediksi kemampuan suatu senyawa dalam menghambat protein. Jin *et al.* [22] menyatakan bahwa ambang batas energi ikat adalah -5,0 kkal/mol, sehingga nilai kurang dari -5,0 kkal/mol dianggap memiliki efek pengikatan kuat dengan protein atau reseptor target. Oleh karena itu, berdasarkan hasil ini, semua senyawa memiliki kekuatan ikatan kuat. efek mengikat untuk memblok target reseptor ACE. Tiga senyawa teratas bersama dengan captopril dipilih untuk divisualisasikan interaksinya.

3.2 Prediksi Senyawa Mirip Obat dan Profil Toksisitas

Tabel 2. Hasil Prediksi Aturan Lipinski

No.	Senyawa	Berat molekul (g/mol)	Akseptor Ikatan Hidrogen	Donor Ikatan Hidrogen	LogP	Pelanggaran
1.	Alpha-Pinene	136,23	0	0	4,29	1
2.	Beta-Pinene	136,23	0	0	4,29	1
3.	Camphene	136,23	0	0	4,29	1
4.	Sabinene	136,23	0	0	4,2 9	1
5.	Myrcene	136,23	0	0	3,56	0
6.	Alpha-Phellandrene	136,23	0	0	3,27	0
7.	Beta-Ocimene	136,23	0	0	3,56	0
8.	Alpha-Terpinene	136,23	0	0	3,27	0
9.	Gamma-Terpinene	136,2 3	0	0	3,27	0
10.	Limonene	136,23	0	0	3,27	0
11.	Alpha-Terpinolene	136,23	0	0	3,27	0
12.	Linalool	154,25	1	1	2,59	0
13.	Alpha-Terpineol	154,25	1	1	2,30	0
14.	Bornyl Acetate	196,29	2	0	2,76	0
15.	Safrole	162,19	2	0	2,02	0
16.	Eugenol	164,20	2	1	2,01	0
17.	Methyleugenol	178,23	2	0	2,30	0
18.	Beta-Caryophyllene	204,35	0	0	4,63	1
19.	Alpha-Bergamotene	204,35	0	0	4,63	1
20.	Beta-Bisobolene	204,35	0	0	4,53	1
21.	Beta-Cadinene	204,35	0	0	4,63	1
22.	Myristicin	192,21	3	0	1,70	0
23.	Catechin	290,27	6	5	0,24	0

Tabel 3. Prediksi Profil Toksisitas Senyawa dalam Pala

No.	Senyawa	<i>hERG</i> Bloker	Hepatotoksitas	Karsinogenisitas	Mutagenisitas	Sitotoksitas	Prediksi LD50 (mg/kg)	Prediksi Kelas Toksisitas
1.	Alpha-Bergamotene	NB (0,365)	NH (0,85)	NK (0,76)	NM (0,88)	NS (0,71)	3700	5
2.	Alpha-Phellandrene	NB (0,316)	NH (0,83)	NK (0,52)	NM (0,92)	NS (0,80)	5700	5
3.	Alpha-Pinene	NB (0,336)	NH (0,86)	NK (0,60)	NM (0,93)	NS (0,75)	3700	5
4.	Alpha-Terpinene	NB (0,298)	NH (0,78)	NK (0,75)	NM (0,85)	NS (0,85)	1680	4
5.	Alpha-Terpineol	NB (0,29)	NH (0,72)	NK (0,76)	NM (0,90)	NS (0,64)	2830	5
6.	Alpha-Terpinolene	NB (0,293)	NH (0,82)	NK (0,77)	NM (0,87)	NS (0,82)	4390	5
7.	Beta-Bisobolene	NB (0,475)	NH (0,82)	NK (0,74)	NM (0,93)	NS (0,81)	4400	5
8.	Beta-Cadinene	NB (0,33)	NH (0,87)	NK (0,69)	NM (0,89)	NS (0,76)	4400	5
9.	Beta-Caryophyllene	NB (0,338)	NH (0,80)	NK (0,70)	NM (0,95)	NS (0,75)	5300	5
10.	Beta-Ocimene	NB (0,299)	NH (0,83)	NK (0,51)	NM (0,90)	NS (0,75)	113	3
11.	Beta-Pinene	NB (0,332)	NH (0,80)	NK (0,66)	NM (0,95)	NS (0,71)	4700	5
12.	Bornyl Acetate	NB (0,26)	NH (0,58)	NK (0,62)	NM (0,94)	NS (0,67)	3100	5
13.	Camphene	NB (0,334)	NH (0,79)	NK (0,56)	NM (0,91)	NS (0,76)	5000	5
14.	Catechin	NB (0,371)	NH (0,72)	NK (0,51)	NM (0,55)	NS (0,84)	10000	6
15.	Eugenol	NB (0,216)	NH (0,67)	NK (0,73)	NM (0,97)	NS (0,90)	1930	4
16.	Gamma-Terpinene	NB (0,298)	NH (0,83)	NK (0,60)	NM (0,92)	NS (0,82)	2500	5
17.	Limonene	NB (0,291)	NH (0,76)	NK (0,65)	NM (0,97)	NS (0,82)	4400	5
18.	Linalool	NB (0,284)	NH (0,76)	NK (0,64)	NM (0,95)	NS (0,82)	2200	5
19.	Methyleugenol	NB (0,241)	NH (0,65)	K (0,76)	NM (0,86)	NS (0,89)	810	4
20.	Myrcene	NB (0,279)	NH (0,72)	K (0,70)	NM (0,80)	NS (0,90)	4260	5
21.	Myristicin	NB (0,262)	H (0,90)	NK (0,62)	NM (0,97)	NS (0,93)	1190	4
22.	Sabinene	NB (0,311)	NH (0,81)	NK (0,59)	NM (0,82)	NS (0,71)	5000	5
23.	Safrole	NB (0,193)	NH (0,77)	K (0,82)	NM (0,91)	NS (0,89)	1950	4

Keterangan:

NB = Non-bloker,
 NH = Non-hepatotoksik,
 H = Hepatotoksik,
 NK = Non-karsinogenik,
 K = Karsinogenik,
 NM = Non-mutagen,
 NS = Non-sitotoksik

3.3 Analisis visualisasi

Ada beberapa residu asam amino yang ditargetkan oleh tiga senyawa seperti yang ditunjukkan pada Tabel 5. Visualisasi hasil penambatan molekuler ditunjukkan dalam bentuk 3D pada Gambar 1 dan bentuk 2D pada Gambar 1 dan bentuk 2D pada Gambar 2. Sebagian besar senyawa menargetkan residu asam amino His361, Phe505, Tyr501, dan Phe435.

Penelitian sebelumnya dilakukan oleh Cozier *et al.* menunjukkan bahwa residu asam amino yang terletak di situs aktif ACE N-domain (nACE) adalah His361, Phe505, His331, His365, dan Glu389 [23]. Selain itu, Ali *et al.* melaporkan bahwa situs pengikatan ACE adalah residu asam amino Ala332, Phe435, Pro497, Val495, Tyr501, Phe505, His331, dan Leu32 [24]. His361, Phe505, dan Tyr501 ditemukan dalam interaksi beta-caryophyllene dan alpha-bergamotene. Phe435 juga ditemukan dalam interaksi alpha-bergamotene dan captopril dengan ACE. Selain itu, Ala332 dan His331 ditemukan sebagai residu asam amino catechin. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa dan captopril berinteraksi di situs aktif ACE. Sebuah studi penambatan molekuler juga menunjukkan bahwa residu asam amino di situs pengikat reseptor yang berinteraksi dengan ligan melalui interaksi hidrofobik adalah Ala 332 dan Phe435 [25]. Sejalan dengan penelitian sebelumnya, temuan dalam penelitian ini menunjukkan bahwa dua Ala332 dalam interaksi catechin ditemukan memiliki interaksi hidrofobik. Studi ini juga menemukan bahwa residu asam amino Phe435 terlihat berinteraksi dengan alpha-bergamotene melalui interaksi hidrofobik. Oleh karena itu, catechin, beta-caryophyllene, alpha-bergamotene, dan captopril berinteraksi di situs aktif ACE.

Sisi aktif atau *binding pocket* adalah area pengikatan protein yang terlibat dalam residu asam amino dan berperan dalam pengikatan. Selain itu, terdapat korelasi antara energi ikat dengan sisi aktif protein [26]. Oleh karena itu, interaksi residu asam amino pada sisi aktif dengan senyawa menyebabkan senyawa tersebut memiliki kemampuan menghambat protein target sebagai inhibitor kompetitif.

Tabel 4. Hasil Penambatan Molekuler

No.	Senyawa	Energi Ikatan (kcal/mol)
1.	Alpha Bergamotene	-7,2
2.	Alpha Phellandrene	-6,9
3.	Alpha Pinene	-6,9
4.	Alpha Terpinene	-6,8
5.	Alpha Terpineol	-6,5
6.	Alpha Terpinolene	-5,9
7.	Beta Bisabolene	-5,9
8.	Beta Cadinene	-7,1
9.	Beta Caryophyllene	-7,3
10.	Beta Ocimene	-5,1
11.	Beta Pinene	-6,9
12.	Bornyl Acetate	-6,8
13.	Camphene	-6,8
14.	Catechin	-8,2
15.	Eugenol	-7,0
16.	Gamma Terpinene	-6,8
17.	Limonene	-6,9
18.	Linalool	-5,1
19.	Methyleugenol	-7,4
20.	Myrcene	-5,0
21.	Myristicin	-7,5
22.	Sabinene	-5,5
23.	Safrole	-7,1
24.	Captopril	-6,7

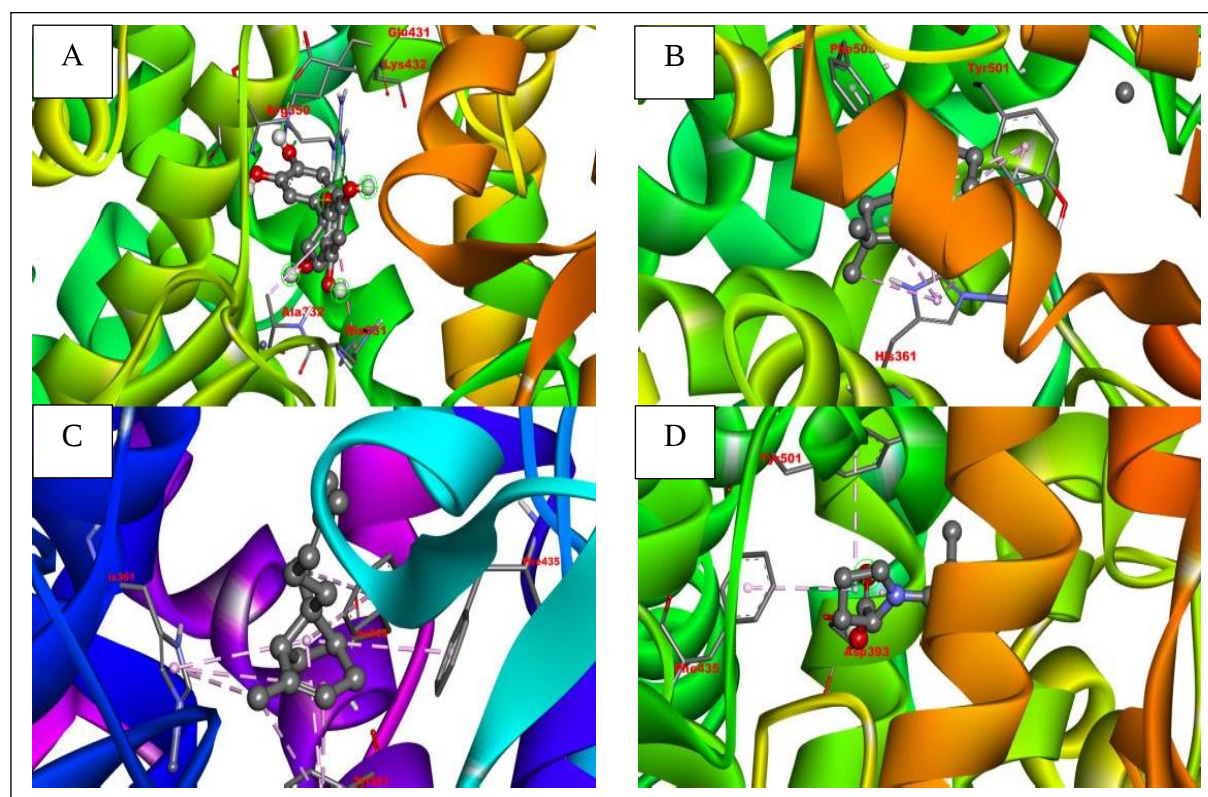
Selanjutnya, analisis juga dilakukan pada dua jenis interaksi yang mempengaruhi nilai energi ikatan. Interaksi tersebut adalah interaksi ikatan hidrogen dan hidrofobik. Ikatan hidrogen dapat didefinisikan sebagai interaksi antara atom hidrogen dengan atom elektronegatif seperti fluor (F), nitrogen (N), dan oksigen (O) [27]. Sedangkan ikatan hidrofobik adalah interaksi yang terjadi antara molekul non-polar yang interaksi tersebut adalah interaksi alkil-alkil, pi-alkil, pi-pi bertumpuk, dan interaksi berbentuk T pi-pi [28]. Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa interaksi hidrogen dan hidrofobik dapat menstabilkan senyawa pada sisi aktif protein dan mengubah nilai energi ikat serta meningkatkan khasiat senyawa ketika berinteraksi dengan protein [29]. Macchiagodena *et al.* menyatakan bahwa interaksi hidrofobik lebih optimal memberikan kontribusi kekuatan ikatan molekul dibandingkan dengan interaksi hidrogen [30]. Sementara itu, Glowacki *et al.* menyatakan bahwa peningkatan jumlah interaksi hidrofobik pada sisi aktif protein dapat meningkatkan aktivitas biologis atau efek senyawa tersebut [31]. Penelitian lain yang dilakukan oleh Varma *et al.* menekankan bahwa interaksi hidrogen dan hidrofobik memiliki kontribusi besar

terhadap stabilitas senyawa [32]. Berdasarkan hasil analisis visualisasi, ketiga senyawa teratas memiliki interaksi ikatan hidrofobik atau hidrogen. Alpha bergamotene memiliki interaksi ikatan hidrofobik paling banyak dibandingkan dengan captopril dan senyawa lainnya, sedangkan catechin memiliki interaksi ikatan hidrogen paling banyak dibandingkan dengan yang lain. Dengan demikian, interaksi tersebut berperan untuk memperkuat ikatan molekul atau meningkatkan energi ikatan. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Francomano *et al.* dilaporkan bahwa β -caryophyllene (BCP) dapat menghambat mediator inflamasi utama, seperti *Nitric Oxide Synthase* (iNOS), Interleukin 1 beta (IL-1 β), Interleukin-6 (IL-6), *Tumor Necrosis Factor-alfa* (TNF- α), *Nuclear Factor Kappa-light-chain-enhancer of Activated B Cells* (NF- κ B), *Cyclooxygenase 1* (COX- 1), *Cyclooxygenase 2* (COX-2). Selain itu, BCP juga memiliki efek

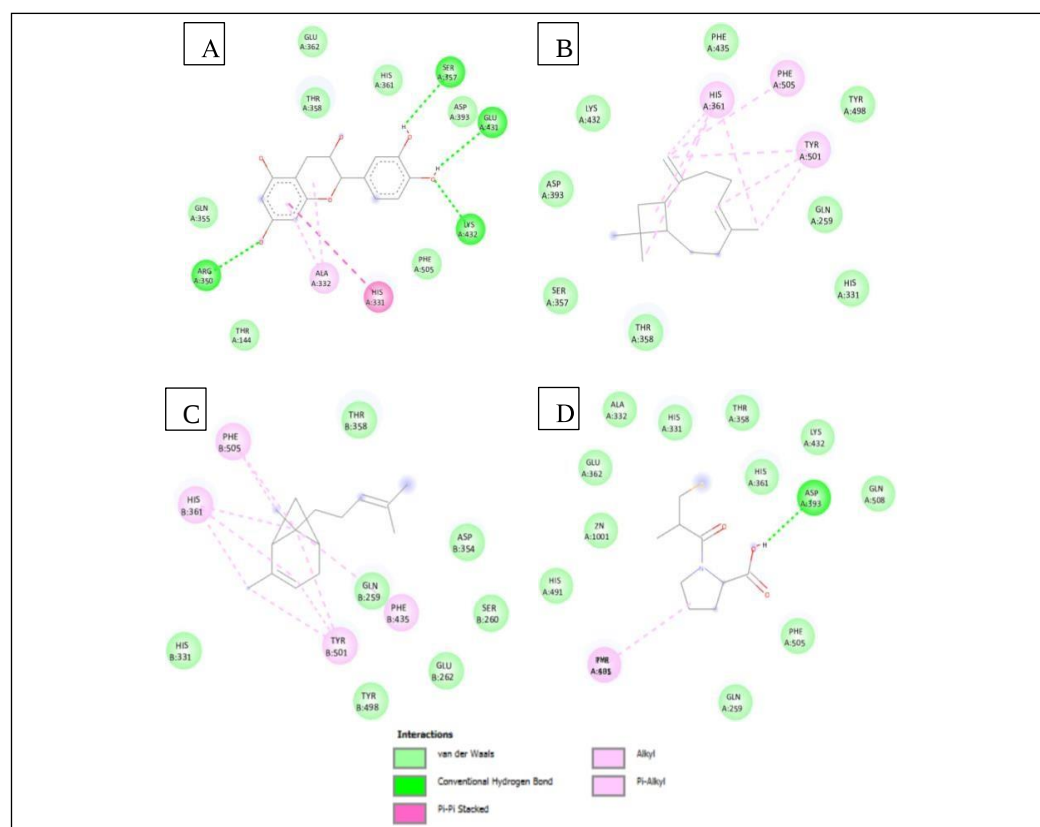
peroxisome proliferator-activated receptors alpha (PPAR- α) yang meregulasi oksidasi dan transportasi asam lemak, dengan mengaktifasi reseptor PPAR- α dan PPAR- γ . Selain itu, BCP membantu memperbaiki berbagai patologi akibat inflamasi pada model hewan, seperti penyakit parkinson, alzheimer, sklerosis multipel, sklerosis lateral amiotropik, stroke, atherosklerosis, serta kanker kolon, payudara, pankreas, lymphoma, melanoma, dan glioma [33].

Tabel 5. Rangkuman Hasil Visualisasi Ikatan Senyawa

Senyawa dan Obat Pemandang	Residu Asam Amino	Interaksi Molekuler	
		Ikatan Hidrofobik	Ikatan Hidrogen
Catechin	Ala332(2), His331, Ser357, Glu431, Lys432	3	3
Beta-caryophyllene	His361(4), Phe505, Tyr501(3)	8	0
Alpha-bergamotene	His361(3), Phe505(2), Tyr501(3), Phe435	9	0
Captopril	Asp393, Tyr501, Phe435	2	1



Gambar 1. Visualisasi 3D Hasil Penambatan Molekuler antara Senyawa dengan Hasil Penambatan Molekuler Terbaik Serta Captopril terhadap ACE. A) Catechin; B) Beta-caryophyllene; C) Alpha-bergamotene; D) Captopril.



Gambar 2. Visualisasi 2D Hasil Penambatan Molekuler antara Senyawa dengan Hasil Penambatan Molekuler Terbaik serta Captopril terhadap ACE. A) Catechin; B) Beta-caryophyllene; C) Alpha-bergamotene; D) Captopril.

Penelitian *in vitro* oleh Adefegha, *et al.* pada ekstrak minyak *A. danielli* yang banyak mengandung senyawa BCP sebesar 50 μL beserta 50 μL larutan ACE yang kemudian diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37°C , menunjukkan efek antihipertensi dengan menurunkan aktivitas ACE [34]. Penelitian oleh Ismaeel *et al.* pada minyak esensial daun dan rizoma *Zingiber officinale* didapatkan bahwa senyawa α -bergamotene sebagai komponen terbesar menunjukkan aktivitas biologi sebagai antioksidan dengan menangkap radikal bebas DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) [35]. Selain itu, penelitian *in vitro* terhadap minyak esensial kulit jeruk (*Citrus sinensis* [L.] Osbeck) yang mengandung α -bergamotene, menyatakan bahwa ekstrak minyak sebesar 0-60 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ dan larutan ACE sebesar 50 μL , 4 mU yang diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37°C menunjukkan efek antihipertensi melalui penghambatan ACE [36]. Sementara itu penelitian oleh Isemura melaporkan bahwa derivat catechin yakni Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) memiliki efek antioksidan terkait

dengan *Reactive Oxygen Species* (ROS) [37]. Selain itu, penelitian *in vitro* oleh Hettihewa *et al.* pada tanaman *Actinidia macrosperma*, menunjukkan efek catechin sebagai antihipertensi melalui penghambatan ACE secara signifikan ($\text{IC}_{50} = 0,49 \text{ mg/mL}$) pada konsentrasi *A. macrosperma* sebesar 2,64 mg/L [38].

4 Kesimpulan

Semua senyawa dalam penelitian ini memenuhi kriteria sebagai obat dan memiliki energi ikatan yang kuat untuk memblokir ACE. Catechin, beta caryophyllene, dan alpha bergamotene tidak menunjukkan efek toksik dan menunjukkan interaksi molekuler yang kuat terhadap ACE dibandingkan dengan captopril dan senyawa lain dengan energi ikat masing-masing -8,2, -7,3, dan -7,2 kkal/mol. Senyawa ini berpotensi untuk dikembangkan sebagai ACE-I. Penelitian lebih lanjut secara *in vitro* dan *in vivo* diperlukan untuk membawa senyawa ini ke penelitian klinis.

5 Pernyataan

5.1 Kontribusi Penulis

Penulis pertama membuat konsep penelitian, melakukan penelitian *molecular docking*, menganalisis *molecular docking*, dan menyusun pembahasan. Penulis kedua melakukan penelitian *molecular docking*, menganalisis *molecular docking*, menyusun pembahasan, dan *editing*. Penulis ketiga menyusun pembahasan, mengurus administrasi, dan *editing*.

5.2 Penyandang Dana

Penelitian ini tidak dibiayai dari sumber manapun.

5.3 Konflik Kepentingan

Tidak ada konflik kepentingan.

6 Daftar Pustaka

- [1] Setiati S, Alwi I, Sudoyo AW, K MS, Setiyohadi B, Syam AF, 2014. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. 6th ed. Jakarta: InternaPublishing; 2014. 2259–83 p.
- [2] Singh S, Shankar R, Singh GP. Prevalence and Associated Risk Factors of Hypertension: A Cross- Sectional Study in Urban Varanasi. *Int J Hypertens*. 2017;2017.
- [3] Mills KT, Stefanescu A, He J. The global epidemiology of hypertension. *Physiol Behav*. 2016;176(1):139–48.
- [4] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Laporan Nasional Riset Kesehatan Dasar. Kementerian Kesehatan RI. Jakarta; 2018.
- [5] Chowdhury MZI, Rahman M, Akter T, Akhter T, Ahmed A, Shovon MA, et al. Hypertension prevalence and its trend in Bangladesh: evidence from a systematic review and meta-analysis. *Clin Hypertens*. 2020;26(1).
- [6] Zhao Y, Xu C. Structure and function of angiotensin converting enzyme and its inhibitors. *Shengwu Gongcheng Xuebao/Chinese J Biotechnol*. 2008;24(2):171–6.
- [7] Luthfi M, Aziz S, Kusumastuti E. Rasionalitas Penggunaan ACE Inhibitor pada Penderita Hipertensi di Bagian Penyakit Dalam RSUD Kayuagung dan RSMH Palembang. *Biomed J Indones*. 2018;4(2):67–75.
- [8] Dicipinigaitis P V. Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor- Induced Cough ACCP Evidence- Based Clinical Practice Guidelines. *Chest J*. 2006;129(1):169S-73S.
- [9] Abachi S, Bazinet L, Beaulieu L. Antihypertensive and angiotensin-i- converting enzyme (ACE)-inhibitory peptides from fish as potential cardioprotective compounds. *Mar Drugs*. 2019;17(11).
- [10] Wahyuni S, A. HE, Suparman N, Mardiana N. Keragaman Produksi Plasma Nutfah Pala (*Myristica fragrans*) di KP Cicurug. *Bul Plasma Nutfah*. 2016;14(2):68.
- [11] Akinboro A, Mohamed K Bin, Asmawi MZ, Sulaiman SF, Sofiman OA. Antioxidants in aqueous extract of *Myristica fragrans* (Houtt.) suppress mitosis and cyclophosphamide-induced chromosomal aberrations in *Allium cepa* L. cells. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2011;12(11):915–22.
- [12] Ansory HM, Sari EN, Nilawati A, Handayani S, Aznam N. Sunscreen and Antioxidant Potential of Myristicin in Nutmeg Essential Oils (*Myristica fragrans*). 2020;26(Table 6):138–42.
- [13] Muchtaridi M, Fauzi M, Ikram NKK, Gazzali AM, Wahab HA. Natural Flavonoids as Potential for Anti- SARS-CoV-2. *MDPI*. 2020;2(August 2020):20.
- [14] Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev*. 2012;64(SUPPL.):4–17.
- [15] Bhat V, Chatterjee J. The Use of In Silico Tools for the Toxicity Prediction of Potential Inhibitors of SARS-CoV-2. *Altern Lab Anim*. 2021;49(1–2):22–32.
- [16] Forli S, Huey R, Pique ME, Sanner M, Goodsell DS, Arthur J. Computational protein-ligand Forli S, Huey R, Pique ME, Sanner M, Goodsell DS, Arthur J. Computational protein-ligand docking and virtual drug screening with the AutoDock suite. *Nat Protoc*. 2016;11(5):905–19.
- [17] Banerjee P, Eckert AO, Schrey AK, Preissner R. ProTox-II: A webserver for the prediction of toxicity of chemicals. *Nucleic Acids Res*. 2018;46(W1):W257–63.
- [18] Banerjee P, Dehnbostel FO, Preissner R. Prediction is a balancing act: Importance of sampling methods to balance sensitivity and specificity of predictive models based on imbalanced chemical data sets. *Front Chem*. 2018;6(AUG):1–11.
- [19] Drwal MN, Banerjee P, Dunkel M, Wettig MR, Preissner R. ProTox: A web server for the in silico prediction of rodent oral toxicity. *Nucleic Acids Res*. 2014;42(W1):53–8.

- [20] Arwansyah, Ambarsari L, Sumaryada TI. Simulasi Docking Senyawa Kurkumin Dan Analognya Sebagai Inhibitor Enzim 12-Lipoksigenase. *Curr Biochem.* 2014;1(in silico):36– 9.
- [21] Zafar A, Ahmad S, Rizvi A, Ahmad M. Novel non-peptide inhibitors against SmCL1 of *Schistosoma mansoni*: In silico elucidation, implications and evaluation via knowledge based drug discovery. *PLoS One.* 2015;10(5):1–33.
- [22] Jin J, Chen B, Zhan X, Zhou Z, Liu H, Dong Y. Network pharmacology and molecular docking study on the mechanism of colorectal cancer treatment using Xiao-Chai-Hu-Tang. *PLoS One* [Internet]. 2021;16(6 June). Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0252508>
- [23] Cozier GE, Schwager SL, Sharma RK, Chibale K, Sturrock ED, Acharya KR. Crystal structures of sampatrilat and sampatrilat-Asp in complex with human ACE – a molecular basis for domain selectivity. *FEBS J.* 2018;285(8):1477–90.
- [24] Ali Y, Seong SH, Jung HA, Choi JS. Angiotensin-I-Converting Enzyme Inhibitory Activity of Coumarins from *Angelica decursiva*.
- [25] Ali A, Baby B, Soman SS, Vijayan R. Molecular insight in the interaction of hemorphan and its targets. *Sci Rep* [Internet]. 2019;9(1):1–16. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-50619-w>
- [26] Prieto-Martínez FD, Arciniega M, Medina-Franco JL. Molecular docking: current advances and challenges. *TIP Rev Espec en Ciencias Químico-Biológicas.* 2018;21:65–87.
- [27] Trott, O., Olson AJ. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *J Comput Chem.* 2019;31(2):455–61.
- [28] Dimmock & Lawlor. BDDCS, the Rule of 5 and Drugability. *Physiol Behav.* 2017;176(12):139–48.
- [29] Pantsar T, Poso A. Binding affinity via docking: Fact and fiction. *Molecules.* 2018;23(8):1DUMMY.
- [30] Macchiagodena M, Pagliai M, Procacci P. Inhibition of the Main Protease 3CL-pro of the Coronavirus Disease 19 via Structure-Based Ligand Design and Molecular Modeling. 2020;1–28. Available from: <http://arxiv.org/abs/2002.09937>
- [31] Głowacki ED, Irimia-Vladu M, Bauer S, Sariciftci NS. Hydrogen- bonds in molecular solids-from biological systems to organic electronics. *J Mater Chem B.* 2013;1(31):3742–53.
- [32] Varma AK, Patil R, Das S, Stanley A, Yadav L, Sudhakar A. Optimized hydrophobic interactions and hydrogen bonding at the target-ligand interface leads the pathways of Drug- Designing. *PLoS One.* 2010;5(8).
- [33] Francomano F, Caruso A, Barbarossa A, Fazio A, Torre C La, Ceramella J, et al. β -Caryophyllene A Sesquiterpene with Countless.pdf. *Appl Sci.* 2019;9:5420.
- [34] Adefegha SA, Olasehinde TA, Oboh G. Essential oil composition, antioxidant, antidiabetic and antihypertensive properties of two *Aframomum* species. *J Oleo Sci.* 2017;66(1):51–63.
- [35] Ismaeel RO, Usman LA. Chemical Composition and Antioxidant Potential of Leaf and Rhizome Essential Oils from *Zingiber officinale* Roscoe var. *colmondeleyi* F.M.Bailey Growing in Nigeria. *Chem Africa.* 2021;(0123456789).
- [36] Oboh G, Olasehinde TA, Ademosun AO. Inhibition of enzymes linked to type-2 diabetes and hypertension by essential oils from peels of orange and lemon. *Int J Food Prop.* 2017;20(1):S586–94.
- [37] Isemura M. Catechin in human health and disease. *Molecules.* 2019;24(3).
- [38] Hettihewa SK, Hemar Y, Vasantha Rupasinghe HP. Flavonoid-rich extract of *actinidia macrocarpa* (a wild kiwifruit) inhibits angiotensin- converting enzyme in vitro. *Foods.* 2018;7(9):4–11.