

**ANALISIS FARMAKOKINETIK DAN TOKSISITAS PADA
KANDUNGAN FENOLIK EKSTRAK DAUN SALAM (*Syzygium
polyanthum*) MENGGUNAKAN IN SILICO pkCMS DAN PROTOX II**

**Felina Astriani Febri ¹, Tiara Chilfi Maulidina Putri ², Anis Farikhatus Salamah ³,
Anjas Wilapangga ⁴**

^{1,2,3,4} Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bina Cipta Husada, Purwokerto
Email : felinaastriani80@gmail.com

ABSTRAK

Daun salam adalah pohon yang tinggal di suhu tropis yang daunnya dikenal sebagai rempah-rempah dan juga sebagai campuran jamu dan obat tradisional yang memiliki efek antioksidan. Daun salam merupakan salah satu jenis tumbuhan yang dapat digunakan sebagai antibakteri karena kemampuannya dalam menghambat aktivitas mikroba. Terdapat banyak senyawa yang terkandung dalam daun salam beberapa diantaranya adalah *4-allyl-1,2-dihydroxybenzene*, *3,4,5-trihydroxy benzoic acid*, *4-hydroxy-3-methoxy benzoic acid*, dan *4-hydroxy-3,5-dimethoxy benzoic acid*. Berdasarkan latar belakang tersebut, Perlu adanya analisis Farmakokinetik dan Toksisitas untuk calon bakal obat, Metode saat ini banyak menggunakan metode in silico untuk menentukan kandungan senyawa secara komputasi, dilakukan menggunakan web server PKCSM dan Protox II. Pada study insilico keempat senyawa tersebut telah memenuhi hukum lima Lipinski dan diprediksi senyawa tersebut mudah diabsorpsi dan permeabilitasnya baik. Keempat senyawa tersebut memiliki toksisitas yang relative rendah.

Kata Kunci: Daun Salam, In silico, pkCMS, Protox II

ABSTRACT

Daun Salam is a tree that lives in tropical temperatures whose leaves are known as spices and also as a mixture of herbal medicine and traditional medicine that has antioxidant effects. Daun Salam is one type of plant that can be used as an antibacterial because of its ability to inhibit microbial activity. There are many compounds contained in bay leaves, some of which are *4-allyl-1,2-dihydroxybenzene*, *3,4,5-trihydroxy benzoic acid*, *4-hydroxy-3-methoxy benzoic acid*, and *4-hydroxy-3,5-dimethoxy benzoic acid*. Based on this background, it is necessary to analyze Pharmacokinetics and Toxicity for prospective drugs, Current methods widely use in silico methods to determine the content of compounds computationally, carried out using PKCSM and Protox II web servers. In the in silico study, the four compounds have fulfilled Lipinski's law of five and it is predicted that the compounds are easily absorbed and have good permeability. The four compounds have relatively low toxicity.

Keywords: Daun Salam, In silico, pkCMS, Protox II.

PENDAHULUAN

Melimpahnya tanaman di Indonesia yang dapat dijadikan rempah-rempah dan calon obat bahan alam, salah satunya adalah Daun salam (*Syzygium polyanthum*). Di Indonesia, tanaman salam tersedia dalam jumlah banyak dan mudah didapat. Kalimantan Barat merupakan salah satu provinsi di Indonesia yang memiliki keanekaragaman hayati yang relatif tinggi, salah satunya daun salam yang merupakan tanaman obat herbal yang dikenal masyarakat sebagai bumbu masakan. Namun, manfaat tanaman salam tidak hanya digunakan sebagai bumbu dapur saja, tanaman ini juga memiliki khasiat obat. Daun salam adalah pohon yang tinggal di suhu tropis yang daunnya dikenal sebagai rempah-rempah dan juga sebagai campuran jamu dan obat tradisional yang memiliki efek antioksidan. Tanaman ini kaya akan nutrisi yang menjadikannya bahan yang menarik untuk mengobati berbagai masalah kesehatan. Nama ilmiah tanaman ini dalam bahasa latin adalah *Eugenia polyantha* Wight dan memiliki nama ilmiah lain yaitu *Syzygium polyantha* Wight dan *Eugenia lucidula* Miq. Tumbuhan ini termasuk dalam famili Myrtaceae. Daun salam mengandung senyawa gizi yang dapat membantu mengurangi penyakit diabetes, menurunkan kolesterol,

tekanan darah tinggi dan diare (Hakim, 2015). Daun salam merupakan salah satu jenis tumbuhan yang dapat digunakan sebagai antibakteri karena kemampuannya dalam menghambat aktivitas mikroba. Terdapat banyak senyawa yang terkandung dalam daun salam beberapa diantaranya adalah 4-allyl-1,2-dihydroxybenzene, 3,4,5-trihydroxy benzoic acid, 4-hydroxy-3-methoxy benzoic acid, dan 4-hydroxy-3,5-dimethoxy benzoic acid.

Berdasarkan latar belakang tersebut, Perlu adanya analisis Farmakokinetik dan Toksisitas untuk calon bakal obat, Metode saat ini banyak menggunakan metode in silico untuk menentukan kandungan senyawa secara komputasi, dilakukan menggunakan web server PKCSM dan Protox II yang digunakan untuk mengetahui apakah ada atau tidaknya senyawa yang dapat digunakan sebagai kandidat obat baru dan ADME (absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi) serta untuk memprediksi toksisitas (LD50) per oral.

METODE

Memprediksi sifat fisikokimia dan toksisitas senyawa dengan menggambar struktur molekul 2D dengan *Chem Bio Draw Ultra Versi 12*, lalu menyalinnya ke *Chem Bio 3D Ultra Versi 12* untuk membuat struktur 3D, lalu menyimpannya dalam bentuk *. sdf

atau *.pdb. Selanjutnya senyawa yang terkandung dalam daun salam diidentifikasi melalui situs Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) untuk dicari code SMILES nya. Dalam bentuk *SMILES* lah, senyawa diproses menggunakan

pkCMS(<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsml/prediction>) untuk memprediksi sifat fisikokimia senyawa dan mendapatkan parameter untuk klasifikasi menurut Hukum Lima Lipinski. Klasifikasi toksisitas senyawa berdasarkan Globally Harmonized System (GHS) digunakan untuk memprediksi toksisitas oral (LD50) pada hewan pengerat menggunakan Protox (http://tox.charite.de/prottox_II/) dan toksisitas senyawa berdasarkan *skin sensitization*, *Ames toxicity*, *Hepatotoxicity* didapatkan melalui PKCSM online tool (Ruswanto et al., 2017).

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Prediksi Sifat Fisikokimia dan ADME

Prediksi absorpsi dan permeabilitas ini didasarkan dengan hukum lima Lipinski dengan membutuhkan beberapa parameter fisikokimia. parameter fisikokimia yang dibutuhkan adalah log P, berat molekul, jumlah ikatan antar atom yang dapat berotasi (Torsion), Hydrogen Bond Acceptors (HBA), Hydrogen Bond Donors (HBD), dan polar surface activity (PSA) dengan memasukkan kode SMILES pada aplikasi pkCSM online tool.

Hasil prediksi sifat fisikokimia ditunjukkan pada tabel 1 dibawah ini :

Keterangan :	
BM	: Berat Molekul <500
\sum HBD	: Jumlah atom OH dan NH <5Log P
\sum HBA	: Koefisien Partisi
HBO	: Jumlah atom O dan N <10 Torsion
	: Ikatan H yang dapat berotasi
PSA	: Polar Surface Activity

Tabel 1. Hasil prediksi sifat fisikokimia Menurut Lipinski *et al* (1997)

Senyawa	Parameter Hukum Lima Lipinski						Penerapan Hukum Lima Lipinski
	BM	LogP	Torsi on	HBD	HBA	PSA (Å ²)	
4-allyl-1,2-dihydroxybenzene	150.177	1.8263	2	2	2	65.425	Ya
3,4,5-trihydroxy benzoic acid	170.12	0.5016	1	4	4	67.135	Ya
4-hydroxy-3-methoxy benzoic acid	168.148	1.099	2	2	3	69.025	Ya
4-hydroxy-3,5-dimethoxy benzoic acid	267.064	2.4144	3	2	4	101.110	Ya

senyawa akan sulit diabsorpsi dan permeabilitasnya rendah apabila mempunyai berat molekulnya lebih besar dari 500, nilai log koefisien partisi oktanol/air (log P) lebih besar dari +5;=;

Hydrogen Bond Donors (HBD), yang dinyatakan dengan gugus O-H dan N-H, lebih besar dari 5; dan *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), yang dinyatakan dengan jumlah atom O dan N, lebih besar dari 10. Dari tabel diatas keempat senyawa memiliki berat molekul kurang dari 500, log P kurang dari 5, jumlah ikatan H donor kurang dari 5, dan ikatan H aseptor kurang dari 10. Sehingga senyawa 4-allyl-1,2- dihydroxybenzene, 3,4,5-trihydroxy benzoic acid, 4-hydroxy-3-methoxy benzoic acid, dan 4-hydroxy-3,5-dimethoxy benzoic acid

memenuhi hukum lima Lipinski dan dapat diprediksi bahwa senyawa tersebut mudah untuk diabsorpsi dan memiliki permeabilitas yang baik. Langkah selanjutnya adalah prediksi absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi dengan memasukkan kode SMILES dari senyawa 4-allyl-1,2-dihydroxybenzene, 3,4,5-trihydroxy benzoic acid, 4-hydroxy-3-methoxy benzoic acid, dan 4-hydroxy-3,5-dimethoxy benzoic acid pada aplikasi pkCSM online tool. Hasil prediksi absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi ditunjukkan pada table 2 dibawah ini.

Tabel 2. Hasil prediksi absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi.

Kategori Prediksi		Hasil			
		4-allyl-1,2-dihydroxybenzene	3,4,5-trihydroxy benzoic acid	4-hydroxy-3-methoxy benzoic acid	4-hydroxy-3,5-dimethoxy benzoic acid
Absorpsi	Absorpsi pada usus (%)	92.09	43.374	78.152	94.29
	Permeabilitas pada kulit (Log Kp)	-2.523	-2.735	-2.726	-2.727
	Permeabilitas Caco-2 (Log Ppap in 10 ⁻⁶ cm/s)	1.676	-0.081	0.33	1.038
	P-glycoprotein substrate	Tidak	Tidak	Tidak	Iya
	P-glycoprotein I inhibitor	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
	P-glycoprotein II inhibitor	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Distribusi	Vdss (Log L/kg)	0.477	-1.855	-1.739	-1.472
	Permeabilitas BBB (Log BB)	0.361	-1.102	-0.38	-0.657
	Permeabilitas CNS (Log PS)	-2.048	-3.74	-2.628	-2.483
Eksresi	Total Clearance (Log mg/kg/hari)	0.206	0.518	0.628	0.606
	Renal OCT2 substrate	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak

Pada tabel diatas prediksi ADME menggunakan pkCSM online tool didapat bahwa absorpsi dari kedua senyawa uji dan senyawa pembanding memiliki nilai % absorpsi pada usus antara 43.374 hingga 94.29 sehingga dapat diprediksi memiliki nilai absorpsi yang baik menurut Chander *et al* (2017) apabila memiliki nilai absorpsi > 80% dan absorbsinya kurang baik jika < 30%. Parameter permeabilitas kulit sangat penting dalam penghantaran obat. Menurut Pires *et al* (2015) senyawa

memiliki permeabilitas yang rendah jika mempunyai nilai log Kp lebih dari -2,5. Dari keempat senyawa yang terdapat padda penelitian ini memiliki nilai log Kp antara -2.523 hingga -2.735. Permeabilitas sel lapis tunggal Caco2 (Caco2 cell monolayer permeability) biasanya sering digunakan sebagai model invitro dari mukosa usus sehingga dapat memprediksi penerapan obat yang diberikan secara oral. Menurut Pires *et al* (2015) senyawa dianggap memiliki permeabilitas Caco-

2 yang tinggi jika $P_{app} > 8 \times 10^6$ cm/s. Namun pada prediksi menggunakan pkCSM tool permeabilitas akan diterjemahkan kedalam nilai log P_{app} dengan dinyatakan tinggi bila memiliki nilai > 0.90 . Pada penelitian ini senyawa 4-allyl-1,2-dihydroxybenzene dan 4-hydroxy-3,5-dimethoxy benzoic acid dapat diprediksi memiliki permeabilitas Caco-2 yang tinggi. Sedangkan senyawa 3,4,5-trihydroxy benzoic acid dan 4-hydroxy-3-methoxy benzoic acid memiliki permeabilitas Caco-2 yang rendah. P-glikoprotein (P-gp) merupakan protein yang membentuk membrane, berfungsi untuk memompa transmembran efluks (Mealey *et al*, 2010). P-gp akan menangkap obat lipofilik saat obat tersebut akan melakukan perjalanan melalui lipid bilayer dan membalik molekul dari dalam ke luar dan akhirnya sampai ke matriks ekstraseluler. (Chakraborty and Ramakrishnan, 2016).

Senyawa 4-hydroxy-3,5-dimethoxy benzoic acid menyatakan iya yang artinya senyawa tersebut akan melewati diabsorpsi melalui P-glikoprotein namun diabsorpsi pada P-glikoprotein I dan II inhibitor. Tetapi pada ketiga senyawa lainnya menyatakan tidak yang artinya senyawa tersebut tidak akan melewati diabsorpsi melalui P-glikoprotein, P-glikoprotein I

dan II inhibitor. Prediksi Distribusi menggunakan pkCSM tool prediksi V_{dss} , BBB, dan CNS.

Volume Distribusi at Steady State (VDSS) adalah volume teoritis bahwa dosis total obat perlu didistribusikan secara merata untuk memberikan konsentrasi yang sama seperti plasma darah. Semakin tinggi nilai VDSS, semakin banyak kandungan obat yang didistribusikan ke jaringan dari plasma. Pires *et al* (2015) menyatakan senyawa dikatakan mempunyai volume distribusi rendah bila nilai Log VDSS $< -0,15$ dan tinggi bila $> 0,45$. Dari tabel di atas nilai Log VDSS yang didapat antara -1.855 hingga 0.477. Yang memiliki VDSS tinggi adalah 4-allyl-1,2-dihydroxybenzene artinya senyawa dapat didistribusikan merata untuk memberikan konsentrasi yang sama seperti pada plasma darah. Sedangkan ketiga senyawa lainnya memiliki VDSS yang rendah.

BBB (Blood Brain Barrier) merupakan kemampuan suatu obat untuk menembus sawar darah otak. Hal ini dapat membantu untuk mengurangi efek samping dan toksisitas ataupun dapat meningkatkan khasiat obat yang memiliki tujuan pengobatan di dalam otak. Menurut Pires *et al* (2015) senyawa dikatakan mampu menembus

sawar otak jika memiliki $\log BB > 0,3$ dan tidak terdistribusi dengan baik bila $\log BB < -1$. Pada tabel di atas didapatkan nilai $\log BB$ antara -1.102 hingga 0.361 . Pada senyawa 4-allyl-1,2-dihydroxybenzene dapat diprediksi mampu menembus sawar darah otak. Sedangkan ketiga senyawa tidak memiliki kemampuan yang baik dalam menembus sawar otak karena $\log BB < 0,3$. Permeabilitas Central Nervous System (CNS) merupakan kemampuan suatu obat untuk menembus system saraf pusat. Hal ini juga penting untuk mengurangi efek samping dan toksisitas ataupun meningkatkan khasiat obat yang memiliki tujuan pengobatan pada system saraf pusat. Menurut Pires *et al* (2015) senyawa dikatakan $\log PS > -2$ dianggap dapat menembus CNS sedangkan $\log PS < -3$ dianggap tidak dapat menembus CNS. Pada tabel di atas didapatkan nilai $\log PS$ antara -2.628 hingga -2.048 . Keempat senyawa memiliki $\log PS < -3$ sehingga tidak dapat menembus CNS. Proses metabolisme adalah suatu proses kimiawi dimana obat akan diubah didalam tubuh membentuk suatu metabolitnya. Organ yang bertanggung jawab adalah hati. Sitokrom P450 merupakan enzim detoksifikasi yang banyak ditemukan didalam hati.

Enzim CYP2D6 merupakan salah satu enzim yang berperan dalam metabolisme beberapa obat. Substrat

CYP3A4 adalah Sitokrom P450 3A4 (disingkat CYP3A4), yang berarti sitokrom P450, famili 3, subfamily A, polipeptida 4. Enzim yang penting setelah obat beredar. Sedangkan inhibitor CYP1A2 merupakan inhibitor dari CYP1A2. CYP2C19 bertanggung jawab untuk metabolisme berbagai obat, termasuk inhibitor pompa proton (PPI). Sehingga CYP2C19 inhibitor merupakan inhibitor dari enzim CYP2C19.

Enzim CYP2C9 terlibat dalam metabolisme 10% obat, sedangkan enzim CYP2C19 terlibat dalam metabolisme 20% obat, CYP2C9 inhibitor merupakan inhibitor dari enzim CYP2C9. CYP2D6 inhibitor juga merupakan inhibitor dari enzim CYP2D6 dan inhibitor CYP3A4 merupakan inhibitor dari enzim CYP3A4. Pada tabel di atas didapatkan bahwa senyawa 4-allyl-1,2-dihydroxybenzene, 3,4,5-trihydroxy benzoic acid, 4-hydroxy-3-methoxy benzoic acid, dan 4-hydroxy-3,5-dimethoxy benzoic acid tidak dimetabolisme oleh enzim CYP1A2 inhibitor, CYP2C19 inhibitor, CYP3A4 substrate, CYP3A4 substrate, CYP2C9 inhibitor dan CYP3A4 inhibitor.

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* (metabolism di hati dan empedu) dan *renal clearance* (ekskresi melalui ginjal).

Hal ini berkaitan dengan bioavailabilitas, dan penting untuk menentukan tingkat dosis untuk mencapai konsentrasi steady-state. Dari tabel di atas nilai yang didapatkan 0.206 hingga 0,628 log mg/kg/hari.

Organic Cation Transporter 2 adalah transporter pada ginjal yang memegang peran penting dalam disposisi

dan clearance obat-obatan dan senyawa endogen. Interaksi sampingan bila diberikan bersama-sama dengan inhibitor OCT2 interaksi sampingan bila diberikan bersama-sama dengan

inhibitor OCT2. Hasil yang didapatkan adalah tidak ada senyawa yang berikatan pada substrat renal OCT-2.

Keterangan

:

* Menggunakan Protox II Online Tool

** Menggunakan pkCSM Online Tool

LD₅₀

: Letal Dose 50

Berdasarkan tabel diatas, hasil yang didapatkan Senyawa 4-allyl-1,2-dihydroxybenzene memiliki nilai LD₅₀ pada hewan coba sebesar 1190mg/kg dan dapat diklasifikasikan pada kelas toksisitas 4, selain itu 4-allyl-1,2-dihydroxybenzene tidak menimbulkan toksisitas pada bakteri (uji mutagenik AMES), dan Hepatototoxicity namun, menyebabkan skin sensitization . Senyawa 3,4,5-trihydroxy benzoic acid memiliki nilai LD₅₀ pada hewan coba sebesar 1190mg/kg dan dapat

Nama Senyawa	Toksisitas				
	LD ₅₀ (mg/kg)*	Uji Mutagenik AMES**	Toksik terhadap hepar**	Sensivitas kulit**	Kelas toksisitas*
4-allyl-1,2-dihydroxybenzene	1190mg/kg	Tidak	Tidak	Iya	4
3,4,5-trihydroxy benzoic acid	1190mg/kg	Tidak	Tidak	Tidak	4
4-hydroxy-3-methoxy benzoic acid	1190mg/kg	Tidak	Tidak	Tidak	4
4-hydroxy-3,5-dimethoxy benzoic acid	1190mg/kg	Tidak	Tidak	Tidak	4

diklasifikasikan pada kelas toksisitas 4, selain itu 3,4,5-trihydroxy benzoic acid tidak menimbulkan toksisitas pada bakteri (uji mutagenik AMES), Hepatotoxicity dan skin sensitization. Pada kedua senyawa pembanding dapat diprediksi tidak toksik terhadap hepar dan tidak menimbulkan mutagenik dan juga sensitif pada kulit. Nilai LD₅₀ dari senyawa 4-hydroxy-3-methoxy benzoic acid dan 4-hydroxy-3,5-dimethoxy benzoic acid adalah 1190mg/kg dan diklasifikasikan pada kelas toksisitas 4, selain itu kedua senyawa ini juga tidak menimbulkan toksisitas pada bakteri (uji mutagenik AMES), Hepatotoxicity dan skin sensitization . Berdasarkan hasil diatas nilai LD₅₀ antara 500-2000 mg/kg dan toksisitas kelas 4 menunjukkan toksisitas yang relatif rendah. Semakin tinggi nilai LD₅₀ maka semakin rendah toksisitasnya (Supandi *et al.*, 2018).

KESIMPULAN

Manfaat daun salam digunakan sebagai obat sakit perut. Daun salam juga dapat digunakan untuk menghentikan buang air besar yang berlebihan. Tanaman salam bisa juga dimanfaatkan untuk mengatasi asam urat, stroke, kolesterol tinggi, melancarkan peredaran darah, radang lambung, gatal-gatal, dan kencing manis. Terdapat banyak senyawa yang

terkandung dalam daun salam beberapa diantaranya adalah 4-allyl-1,2-dihydroxybenzene, 3,4,5-trihydroxy benzoic acid, 4-hydroxy-3-methoxy benzoic acid, dan 4-hydroxy-3,5-dimethoxy benzoic acid. Pada study insilico keempat senyawa tersebut telah memenuhi hukum lima Lipinski dan diprediksi senyawa tersebut mudah diabsorpsi dan permeabilitasnya baik. Keempat senyawa tersebut memiliki toksisitas yang relative rendah.

DAFTAR PUSTAKA

- Merdekawati, F. (2018). In silico study of pyrazolylaminoquinazoline toxicity by lazar, protox, and admet predictor. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 8(9), 119-129.
- Richa, M., Tita, N., & Tresna, L. (2017). Molecular docking of 1-benzoyl-3-methylthiourea as anti cancer candidate and its absorption, distribution, and toxicity prediction. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 9(5), 680.
- Firdausy, A. F., Mutiah, R., & Rahmawati, E. K. (2020). Predicting pharmacokinetic profiles of sunflower's (*Helianthus annuus* L.) active compounds using in silico approach. *Journal of Islamic Medicine*, 4(1), 1-7.

Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. (1997). Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced drug delivery reviews*, 23(1-3), 3-25.

Chander, S., Tang, C. R., Penta, A., Wang, P., Bhagwat, D. P., Vanthuyne, N., ... & Sankaranarayanan, M. (2018). Hit optimization studies of 3-hydroxy-indolin-2-one analogs as potential anti-HIV-1 agents. *Bioorganic Chemistry*, 79, 212-222.

Kamaruddin, F., Ariyandy, A., Yustisia, I., & Sulfahri, S. (2021). *In-Silico Test of Activity Quercetin as a Natural Compound in Reducing Hypertension* (No. 7201). EasyChair.