Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology
Journal Homepage : http://jurnal.unpad.ac.id/ijpst/
Research Article

Identification of Angiotensin Receptor Blocker II Ligands From Gotu Kola (*Centella asiatica* L.) Extract: an *In Silico* Study

Deden I. Dinata[1], Margareta I. Peni[1], Aiyi Asnawi[1]

[1]Pharmaceutical Analysis and Medicinal Chemistry, Pharmacy Faculty, Universitas Bhakti Kencana, Bandung, Indonesia

Submitted 03 October 2023; Revised 12 November 2023; Accepted 18 December 2023; Published 30 December 2023
*Corresponding author: deden.indradinata@bku.ac.id

Abstract

Noncommunicable diseases, such as hypertension, are a major cause of health problems in developed countries. Angiotensin receptor blocker (ARB) II is a common first-line therapy for hypertension. ARB works by blocking angiotensin II, which causes vasoconstriction of blood vessels throughout the body. The study aimed to identify the lead compound from 54 phytochemicals of Gotu kola (*Centella asiatica* L.) extract using an *in silico* study by targeting type 1 angiotensin II receptors. Molecular docking and molecular dynamics simulation were chosen as the methods in this study to predict the interaction and the affinity and stability of the interaction. Based on the results of molecular docking, it was found that campesterol, centellasaponin B, and corosolic acid have a good affinity for the targets with free-energy binding of xxx, yyyy, and zzzz kcal/mol, respectively. These ligands were free of energy binding close to the native ligand (Olmesartan) (ΔG= -10.79 kcal/mol). Furthermore, in the molecular dynamics simulation for 100 ns, it was found that centellasaponin B has a good interaction stability of the complex with MMGBSA of -71.4347 kcal/mol. It was concluded that the gotu kola (*Centella asiatica* L.) centellasaponin B was a potential lead compound for the AT1 receptor.

Keywords: Antihypertension, AT1, *Centella asiatica* L., molecular docking, molecular dynamics.

Identifikasi Ligan Angiotensin Receptor Blocker II Dari Ekstrak Pegagan (*Centella asiatica* L.): Studi *In Silico*

Abstrak

Penyakit tidak menular, seperti hipertensi, merupakan penyebab utama masalah kesehatan di negara maju. Angiotensin receptor blocker (ARB) II adalah terapi lini pertama yang umum untuk hipertensi. ARB bekerja dengan cara memblokir angiotensin II yang menyebabkan vasokonstriksi pembuluh darah di seluruh tubuh. Penelitian bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa timbal dari 54 fitokimia ekstrak pegagan (*Centella asiatica* L.) secara *in silico* dengan menyasar reseptor angiotensin II tipe 1. Simulasi docking molekul dan dinamika molekul dipilih sebagai metode dalam penelitian ini untuk memprediksi interaksi serta afinitas dan stabilitas interaksi. Berdasarkan hasil penambatan molekuler, ditemukan bahwa campesterol, centellasaponin B, dan asam corosolic mempunyai afinitas yang baik terhadap target dengan ikatan energi bebas berturut-turut sebesar xxx, yyyy, dan zzzz kkal/mol. Ligan ini bebas dari ikatan energi yang dekat dengan ligan aslinya (Olmesartan) (ΔG= -10,79 kkal/mol). Selanjutnya pada simulasi dinamika molekuler selama 100 ns ditemukan bahwa centellasaponin B memiliki stabilitas interaksi kompleks yang baik dengan MMGBSA sebesar -71,4347 kkal/mol. Disimpulkan bahwa pegagan (*Centella asiatica* L.) centellasaponin B merupakan senyawa timbal yang potensial untuk reseptor AT1.

Kata Kunci: Antihipertensi, AT1, *Centella asiatica* L., *molecular docking, molecular dynamics*.

1. Pendahuluan

Penyakit Tidak Menular (PTM) adalah masalah kesehatan utama di negara maju, salah satunya adalah hipertensi[1]. Penyakit ini tidak membunuh secara langsung namun memicu terjadinya penyakit lain yang tergolong mematikan. Di samping itu dapat meningkatkan resiko serangan jantung, gagal jantung, stroke, dan gagal ginjal[2]. Hipertensi merupakan penyakit penyebab kematian nomor satu di dunia setiap tahunnya sehingga dikategorikan sebagai penyakit mematikan atau sering disebut sebagai silent killer[3,4].

Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) menyatakan bahwa pada tahun 2025, sekitar 29 persen penduduk dunia diperkirakan menderita tekanan darah tinggi[4]. Secara global, diperkirakan 1,28 miliar orang dewasa berusia antara 30 dan 79 tahun menderita tekanan darah tinggi, dengan mayoritas (dua pertiga) tinggal di negara-negara berpenghasilan rendah dan menengah[5].

Hasil Riskesdas tahun 2018, prevalensi hipertensi pada penduduk Indonesia adalah 34,11%. Prevalensi hipertensi pada perempuan 36,85% lebih tinggi dibandingkan laki-laki yaitu 31,34%. Prevalensi di perkotaan adalah 34,43%, sedikit lebih tinggi dibandingkan 33,72% di pedesaan[6,7]. Angka ini mengalami peningkatan yang cukup signifikan dibanding data Riskesdas tahun 2013 terutama pada usia 18-24 tahun (13,2%), di usia 25-34 (20,1%) dan 25-44 (31,6%). Provinsi prevalensi tertinggi tahun 2018 adalah Kalimantan Selatan sebesar 44,13%, sedangkan angka prevalensi terendah yaitu Provinsi Papua yaitu 22,2%[7].

Terapi pengobatan hipertensi terdiri dari terapi farmakologi dan non farmakologi. Terapi non-farmakologi adalah terapi tanpa obat-obatan sedangkan terapi farmakologi menggunakan obatan-obatan. Terapi farmakologi lini pertama untuk sebagian besar pasien hipertensi adalah *Angiotensin-converting-enzyme inhibitors* (ACEI) *Angiotensin II Receptor Blockers* (ARB), *Calcium Channel Blockers* (CCB), atau *Thiazide*[8]. Salah satu obat hipertensi yang umum digunakan adalah ARB. ARB bekerja dengan menghambat Angiotensin II yang dapat menyebabkan vasokontriksi seluruh pembuluh darah[9].

Efek antagonis obat ini merelaksasi otot polos dan menyebabkan volume vasodilatasi meningkatkan ekskresi garam dan air, mengurangi volume plasma, dan menurunkan hipertrofi seluler[10]. ARB harus digunakan secara hati-hati pada pasien dengan kerusakan hati dan ginjal serta dikontraindikasikan pada kehamilan. Efek samping ARB meliputi hipotensi, hiperkalemia, dan penurunan fungsi ginjal [11]. Oleh karena itu, perlu dilakukan pencarian alternatif ARB yang lebih aman.

Pegagan atau Gotu kola (*Centella asiatica* L.) merupakan tanaman tropis etnomedis yang terkenal dengan berbagai khasiat terapeutik dan telah digunakan sebagai obat tradisional selama bertahun-tahun dari suku *Apiaceae*[12]. Tumbuhan ini telah digunakan secara luas dalam mengobati penyakit pembuluh darah, seperti mikroangiopati hipertensi vena[13]. Penelitian lain menunjukkan, asam asiatik telah terbukti menunjukkan efek antihipertensi pada tikus hipertensi renovaskular 2K-1C. Sedangkan pemberian asam asiatik 30 mg/kg/hari intragastrik selama 4 minggu menormalkan peningkatan tekanan darah arteri dan denyut jantung rata-rata pada tikus[14].

Penelitian pegagan (*Centella asiatica* L.) dengan aktivitas antihipertensi berbasis bahan alam sudah banyak dilakukan. Namun belum ada penelitian lebih lanjut untuk mengetahui reseptor target kerja secara spesifik, khususnya pada reseptor Angiotensin II. Reseptor Angiotensin II diklasifikasikan menjadi dua subtipe, Angiotensin II tipe 1 (AT1) dan Angiotensin II tipe 2 (AT2). Reseptor AT1 ketika teraktivasi akan menghasilkan efek vasokonstriksi vaskuler dan peningkatan pengeluaran hormon Aldosteron yang mengakibatkan terjadinya retensi natrium dan air, sehingga terjadi peningkatan tekanan darah[15].

Berdasarkan kondisi di atas, pemilihan metode yang dipilih guna mengidentifikasi senyawa pemandu dari bahan alam adalah metode *in-silico* yaitu metode penambatan molekul dan dinamika molekul. Karena

kemampuannya mempercepat identifikasi dan optimalisasi senyawa pemandu, pendekatan *in-silico* dipilih sebagai yang metode terdepan dalam meningkatkan kecepatan dan keakuratan proses identifikasi obat baru. Teknik *molecular docking* dan dinamika molekuler (MD) mampu secara langsung menunjukkan sejumlah kecil molekul dengan afinitas dan selektivitas tinggi dengan mengamati bagaimana ligan dan target berinteraksi[16,17]. Penambatan molekul adalah salah satu metode yang paling sering digunakan dalam *structured based drug design* (SBDD) karena kemampuannya untuk memprediksi, dengan tingkat akurasi yang substansial, dan konformasi ligan molekul kecil dalam situs pengikatan target yang sesuai[18]. Dinamika molekul untuk mengkaji kestabilan interaksi protein dengan ligan dalam kondisi yang dibuat semirip mungkin dengan fisiologis tubuh manusia dalam rentang waktu tertentu dari senyawa terbaik hasil penambatan molekul[19].

Berdasarkan latar belakang di atas, peneliti tertarik melakukan penelitian terkait tumbuhan asli Indonesia yaitu pegagan (*Centella asiatica* L.) sebagai salah satu sumber yang potensial ditemukannya senyawa antihipertensi.

2. Metode

2.1. Hardware

Perangkat keras yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat komputer dengan spesifikasi sebagai berikut: *Central Processing Unit* (CPU) AMD® Ryzen 9 3900X, *Graphic Processing Unit* (GPU) Nvidia® GTX 1080 Ti, *Random Access Memory* (RAM) 32GB, dan sistem operasi Ubuntu 16.04 LTS.

2.2. Software

Pemodelan molekul 2D dan 3D dengan ChemBio Office 201020, Optimasi Geometri dengan aplikasi Gaussian 0921. Simulasi molecular docking menggunakan Autodock 16), simulasi *Molecular Dynamic* menggunakan Ambertools v.1822. Visualisasi struktur kimia menggunakan *Discovery Studio Visualizer* (DSV) 23. AutoDockTools v.4.2.6 digunakan untuk persiapan docking dan analisis data16. Analisis hasil MD menggunakan MMGBSA[17,24].

2.3. Procedure

2.3.1. Preparasi Protein

Protein yang digunakan sebagai target adalah Angiotensin II Type 1 Reseptor (AT1). Persiapan protein target dengan mempersiapkan struktur 3D yang diunduh dari www.rcsb.org dengan kode PDB ID 4ZUD dalam bentuk file protein data bank (*.pdb) dengan kode 4ZUD[25]. Struktur yang telah diunduh, dihilangkan ion-ion dan molekul air agar tidak mengganggu proses pengerjaan[26]. Penambahan atom hidrogen bersifat polar saja yang membentuk ikatan hidrogen dan menyesuaikan suasana *docking* agar mendekati pada pH 7[19].

Pemisahan protein dan *native* ligan menggunakan aplikasi *Discovery Studio* 2016[27]. Struktur protein untuk *docking* dan MD penelitian disiapkan dengan memperbaiki residu pecah, perbaikan atom, penambahan hidrogen, dan pemuatan protein dilakukan dengan menggunakan DSV dan Autodock *tools* [23].

2.3.2. Persiapan Ligan

Pencarian senyawa pegagan (*Centella asiatica* L.) yang diduga memiliki aktivitas sebagai antihipertensi[28], dilakukan dengan penelusuran terlebih dahulu terhadap senyawa-senyawa yang telah diisolasi. Senyawa diunduh dari situs penyedia database ligan seperti situs PubChem (http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov).

2.3.3. Simulasi *Molecular Docking*

Penambatan molekul dilakukan menggunakan perangkat lunak AutoDock 4.2.6. Struktur makromolekul dan ligan yang telah dioptimasi secara terpisah disimpan dalam satu *folder* yang sama. Persiapan dilakukan melalui perangkat lunak AutoDock 4.2.6 terlebih dahulu. *File*.pdbqt makromolekul dan ligan dibuat dari *file* yang telah telah berisi makromolekul dan ligan dalam format pdb melalui AutoDock 4.2.6.

Koordinat yang digunakan dalam

penambatan molekul adalah dengan koordinat pusat (X, Y, Z) -41,355; 63,098; dan 28,373. Ukuran grid box yang digunakan 54 × 54 × 54. *Grid box* merupakan tempat dimana ligan akan berinteraksi dengan residu asam amino pada protein target. Penentuan *grid box* dilakukan untuk mengetahui titik koordinat pada *binding site* dari suatu protein. Pengaturan *grid box* yang dilakukan adalah pengaturan koordinat *grid center* dan pengaturan *grid size*[29]. Metode LGA digunakan karena paling akurat, terdiri dari kombinasi metode *local search* dan *genetic algorithm Number of GA runs* sebanyak 100, menunjukkan 100 pose interaksi ligan terhadap reseptor AT1 pada penambatan molekul[30]. Metode LGA digunakan karena paling akurat, terdiri dari kombinasi metode *local search* dan *genetic algorithm*[31].

Validasi metode penambatan molekul dilakukan antara AT1 menggunakan aplikasi Autodock versi 4.2.6 dengan cara kalkulasi nilai RMSD. Interpretasi hasil dilihat dari nilai RMSD, dikatakan valid jika nilai RMSD ≤ 2 Å. Kemudian masing-masing senyawa uji dilakukan penambatan molekul untuk mengetahui nilai energi bebasnya (ΔG) dan nilai konstanta inhibisi (Ki) serta dilihat interaksi ikatan ligan-reseptor dan hubungan ikatan obat dengan aktivitasnya[32].

Interpretasi hasil penambatan molekul dengan melihat nilai ΔG (energi bebas ikatan), Ki (konstanta inhibisi) dan visualisasi interaksi menggunakan perangkat lunak DSV untuk melihat interaksi ikatan yang terbentuk antara ligan uji dengan reseptor AT1[33].

2.3.4. Simulasi Dinamika Molekul

Simulasi MD dilakukan untuk menganalisis dampak pengikatan ligan L15, L52, L54, L29, dan L24 hasil penambatan molekul dengan energi ikatan terendah pada residu protein AT1, terutama pada daerah pengikatan. Pengikat yang kuat cenderung mengurangi mobilitas atom-atomnya mengikat dan menstabilkan daerah pengikatan protein pada residu protein target, terutama pada daerah pengikatan. Simulasi dinamika molekul dibuat kondisi yang semirip mungkin dengan fisiologis tubuh manusia dalam rentang waktu tertentu.

Tahapan simulasi dinamika molekul terdiri dari beberapa tahap, tahap pertama persiapan topologi (ligan, reseptor, kompleks, dan kompleks terlarut) menggunakan Ambertools v.1822. Pada tahap ini sistem kompleks protein-ligan dibuat dalam lingkungan yang mengandung pelarut (model air TIP3P). Jenis air TIP3P dipilih karena memiliki struktur yang kaku sehingga digunakan dalam sistem biomolekuler untuk simulasi yang lebih besar untuk mempercepat proses simulasi[23].

Tahap kedua adalah tahap netralisasi, penambahan ion Cl^- untuk membuat sistem menjadi netral. Tahap ketiga yakni minimisasi, tahap ini dilakukan untuk merelaksasi gaya berlebih pada sistem. Tahap minimisasi energi, bertujuan untuk merelaksasi interaksi ikatan. Tahap ini menunjukan terjadinya penurunan energi potensial dan menghasilkan konformasi yang lebih stabil. Minimisasi energi bertujuan untuk menghindari bentrokan antar atom yang kemungkinan ada pada saat proses penambahan hidrogen atau pemutusan ikatan hidrogen pada fase pengisian air dalam box. Hal tersebut menyebabkan atom –atom di dalam protein terlalu dekat sehingga mungkin terjadi bentrokan atom. Ekuilibrasi dilakukan untuk menstabilkan sistem, sehingga sistem mencapai keadaan konstan sebelum menjalani simulasi dinamika molekuler. Tahap ini dilakukan untuk membuat sistem berada pada temperatur, volume, dan tekanan yang konstan. Tahap terakhir yaitu tahap produksi, pada tahap ini simulasi yang dilakukan selama 100 ns.

3. Hasil

3.1. Preparasi Protein

Pengunduhan makromolekul AT1 dari PDB dengan kode 4ZUD dan ligan alami. Hasil pemisahan makromolekul dan ligan alami, makromolekul AT1 terikat dengan ligan dan banyak terdapat bentuk molekul pelarut air atau residu-residu lain yang harus dihilangkan. Adanya molekul air yang tersebar pada sekeliling makromolekul dapat mengganggu ikatan proses penambatan berupa kemungkinan terikat ligan dengan

Tabel 1. Nilai energi ikatan dan konstanta inhibisi hasil simulasi *docking*

Kode Ligan	ΔG (kkal/mol)	Ki (μM)	Residu Asam Amino
Ligan Alami	-10,81	0,01195	Lys199, Ser109, Leu122, Val108, Leu81, Tyr292, Tyr35, Phe77, Trp84, Ile288, Pro285, Tyr92, Tyr87, Ser105, Cys180, Phe182, Arg167, Ala163
L15	-10,79	0,01228	Phe293, Cys289, Thr88, Ile288, Arg167, Cys180, Ser105, Tyr87, Tys292, Tyr35, Tyr92, Ile38, Leu 81, Phe77, Trp84, Val108
L52	-10,30	0,02828	Arg167, Gln267, Asp281, Thr88, Asp263, Trp84, Tyr35, Leu81, Ile288, Phe77, Val108, Tyr292, Met284, Pro285, Tyr87, Ile31, Tyr92
L54	-10,01	0,04622	Arg23, Gly22, Asp281, Met284, Thr88, Val108, Ala21, Arg167, Trp84, Tyr92, Tyr87, Ile288, Tyr35, Pro285
L29	-9,59	0,09285	Ile27, Thr282, Asp281, Met284, Val108, Ala21, Gly22, Arg167, Trp84, Pro285, Ile288, Tyr35, Tyr87, Tyr92
L25	-9,36	0,13694	Cys180, Val179, Tyr92, Thr88, Ile31, Tyr35, His256, Thr260, Trp253, Leu112, Tyr113, Met284, Ala18, Tyr87, Phe182, Arg167, Ser109, Asp263, Tyr87, Tyr184, Tyr292, Lys199, Val108, Ile288, Pro285, Trp84

molekul air melalui ikatan hidrogen[26]. Tahap penambahan atom hidrogen pada reseptor AT1 dilakukan karena pada metode kristalografi sinar-X dipreparasi secara eksperimental sehingga tidak ada atom hidrogen pada struktur. Penambahan atom hidrogen bersifat polar saja yang membentuk ikatan hidrogen dan menyesuaikan suasana *docking* agar mendekati pada pH 7[19].

3.2. Persiapan Ligan

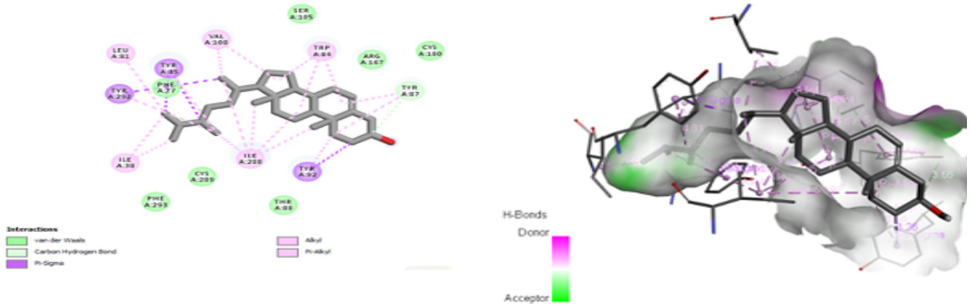
Hasil persiapan ligan diperoleh 55 senyawa dari ekstrak pegagan (*Centella asiatica* L.) yang diunduh dari situs penyedia *database* ligan seperti situs PubChem (http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov). Penyaringan senyawa uji dilakukan untuk memperlihatkan parameter sifat fisikokimianya. Hal ini dilakukan agar senyawa memiliki permeabilitas yang baik dalam menembus membran. Akibatnya senyawa mudah diserap oleh tubuh dengan mengikuti syarat *Lipinski Rule of five.* Diperoleh lima senyawa yang dilanjutkan pada tahap simulasi *molecular docking* yaitu L15, L25, L29, L52 dan L54.

Pada penelitian sebelumnya[34] hanya senyawa yang memenuhi paling sedikit 3 dari 4 aturan (Log P, Bobot Molekul, Jumlah akseptor ikatan H & jumlah donor ikatan H) yang akan dilakukan penambatan molekul. Jika suatu senyawa kimia memenuhi kriteria aturan Lipinski, maka senyawa tersebut dianggap memiliki potensi dapat masuk ke dalam membran sel dan diserap oleh tubuh[35].

3.3. Kajian Interaksi Molekul (*Molecular Docking*)

Hasil validasi *molecular docking* menunjukkan nilai RMSD yang di hasilkan adalah 0,740 Å. Maka validasi metode dikatakan valid karena memenuhi syarat ≤ 2 Å[17]. Penambatan senyawa pegagan (*Centella asiatica* L.) yang telah dioptimasi pada protein AT1 dilakukan menggunakan aplikasi Autodock Tools 4.2.6 dengan prosedur dan koordinat yang sama seperti pada validasi metode yang telah tervalidasi. Simulasi penambatan dilakukan dalam kondisi ligan fleksibel, untuk penyesuaian struktur ligan yang paling stabil berinteraksi dengan reseptor[36]. Residu asam amino yang penting yang bertanggung jawab terhadap aktivitas adalah Tyr35, Trp84, and Arg167 dengan membentuk ikatan hidrogen[25]. Sisi aktif merupakan area dari pengikatan protein terhadap ligan yang akan mempengaruhi konformasi maupun fungsi dari protein. Sisi aktif memperlihatkan residu-residu asam amino yang berperan penting dalam membentuk interaksi antara makromolekul AT1 dan ligan alami seperti ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik, dan Interaksi *Van der Waals* [37].

Parameter kestabilan yang diamati ΔG dan Ki. Hasil penelitian, diketahui ligan uji L15, L52, L54, L29, dan L25 dengan nilai Ki dan ΔG dengan nilai berturut-turut -10,79 kkal/mol dan 0,01228 μM, -10,30 kkal/mol dan 0,02828 μm, -10,01 kkal/mol dan 0,04622 μM, -9,59 kkal/mol dan



Gambar 1. Visualisasi Interaksi 2D dan 3D Ikatan Ligan Uji Terbaik (L15)

0,09286 µm, & -9,18 kkal/mol dan 1,3694 µm, memungkinkan untuk dipilih sebagai kandidat obat antihipetensi. Hal ini karena hasil penambatan yang telah dilakukan memiliki hasil afinitas mendekati ligan alami. Berikut visualisasi dan interaksi ligan L15 (Gambar 1).

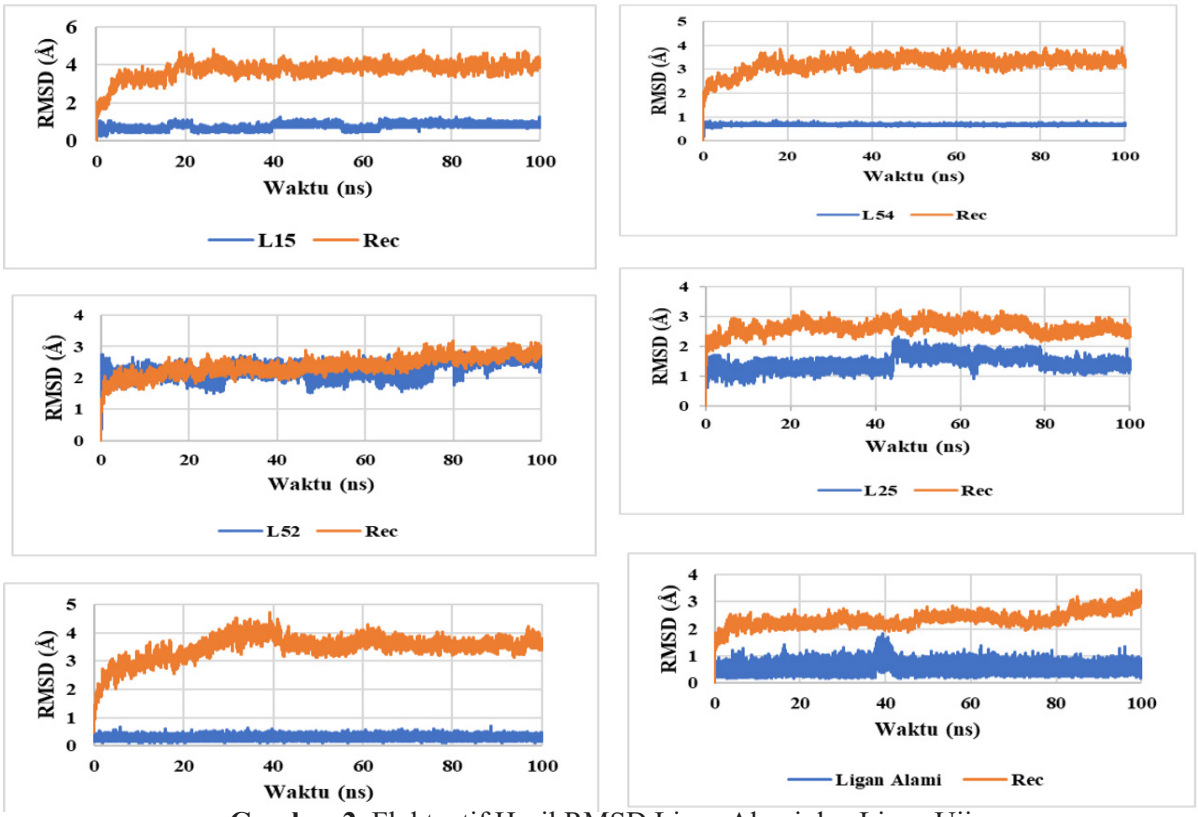
Visualisasi interaksi pada Gambar 1 yang terbentuk untuk ligan terbaik dengan protein AT1. Berdasarkan nilai Ki dan ΔG serta interaksi yang terbentuk maka ligan L15, L52, L54, L29, dan L25 yang dipilih untuk dilanjutkan ke dinamika molekul untuk melihat stabilitas terhadap reseptor AT1 pada keadaan mendekati fisiologis tubuh. Simulasi penambatan dilakukan dalam kondisi ligan fleksibel, untuk penyesuaian struktur ligan yang paling stabil berinteraksi dengan reseptor[36].

3.4. RMSD

Analisis RMSD menggambarkan perubahan atau pergeseran konformasi molekul ligan dan reseptor. Tujuan dilakukan analisis RMSD hasil dinamika molekul menggambarkan seberapa jauh keadaan kompleks protein-ligan berubah tiap waktu sampai akhir simulasi serta memastikan stabilitas struktur kompleks protein-ligan. Nilai rentang RMSD ligan alami adalah 0,558 Å dan 0,146 Å - 1,823 Å. Ligan uji yang nilainya lebih baik dari ligan alami adalah L29 dengan nilai 0,287 Å dan 0,199 Å -0,705 Å. Berdasarkan Gambar 2 di atas, menunjukkan hasil kompleks yang bervariasi. Pada ligan alami terjadi lonjatan di awal pada 5 ns, kemudian konstan sampai 100 ns. Pada kompeleks L15 terjadi lonjatan diawal pada 6 ns, kemudian konstan sampai 18 ns, dan terjadi sedikit lonjatan sebelum konstan hingga 100 ns. Pada Kompleks L52 terjadi lonjatan secara perlahan dari awal hingga akhir simulasi. Pada Kompleks L54 terjadi lonjatan di awal simulasi sampai 16 ns dan kembali stabil di 17 ns sampai akhir simulasi. Pada kompleks L29 Terjadi lonjakan dari awal simulasi sampai 41 ns dan kembali stabil di 42 ns sampai akhir simulasi. Pada kompleks L25 terjadi lonjatan secara berkala diselang waktu tertentu sampai akhir simulasi. Pada ligan alami menunjukkan simulasi cenderung konstan namun pada 40-42 ns terjadi fluktuatif dan kembali konstan sampai 100 ns. Pada ligan L15, L54, L29 stabil dari awal hingga akhir simulasi berlangsung, ligan L52 terjadi fluktuatif dari 1 sampai 100 ns dan pada ligan L25 stabil di awal namun terjadi fluktuatif di 47-80 ns dan kembali konstan sampai 100 ns. Peningkatan nilai RMSD menunjukkan bahwa struktur reseptor mulai terbuka dan ligan mulai mencari sisi ikatan atau koordinat yang sesuai pada protein tersebut. Ligan akan memulai aksinya untuk mencari sisi ikatan atau koordinat yang sesuai pada protein tersebut. Sedangkan nilai RMSD yang stabil menandakan bahwa konformasi maksimal protein terikat dengan *ligand* mulai tercapai sehingga protein mampu mempertahankan posisinya. Selain itu, adanya interaksi antar residu membuat protein cenderung mempertahankan strukturnya. Dengan penambahan waktu simulasi, maka akan dapat dilakukan analisis lebih mendalam tentang kestabilan ikatan yang terjadi antara ligan makromolekul[38].

Tabel 2 menunjukkan pergerakan rata-rata deviasi dan nilai rentang RMSD ligan alami adalah 0,558 Å dan 0,146 Å - 1,823 Å. Ligan uji yang nilainya lebih baik dari ligan alami adalah L29 dengan nilai 0,287 Å dan 0,199 Å -0,705 Å.

Pergerakan rata-rata ukuran yang sering



Gambar 2. Fluktuatif Hasil RMSD Ligan Alami dan Ligan Uji

digunakan dalam geometri tiga dimensi molekul untuk membandingkan pergeseran atau perubahan konformasi molekul. Berdasarkan Gambar 2 dan Tabel 2 dapat disimpulkan ligan uji yang memiliki nilai fluktuatif yang lebih baik dari ligan alami adalah L29 (Asam Ursolic).

3.5. RMSF

Analisis RMSF adalah perubahan tiap atom atau residu asam amino penyusun reseptor yang akan menghasilkan fleksibilitas dari reseptor tersebut. Nilai RMSF secara garis besar akan menggambarkan pergeseran masing-masing residu asam amino selama simulasi berlangsung pada sisi aktif reseptor. Fleksibilitas menggambarkan interaksi kompleks protein-ligan. Berikut hasil analisis ligan (Gambar 3).

Gambar 3 di atas, menunjukkan hasil yang bervariasi. Pergerakan rata-rata fluktuasi residu asam amino ligan alami, L15, L52, L54, L29, dan L25 berturut-turut adalah 1,3251 Å, 1,3630 Å, 1,2329 Å, 1,3925 Å, 1,3680 Å, dan 1,3466 Å. Residu asam amino yang memiliki nilai yang tinggi atau tidak stabil ditandai dengan bulatan biru antara lain Ser6, Pro19, Asn174, Tyr56, Ser136, Asn174, Asn188, 202, Asn231, Ile270. Residu asam amino yang tidak stabil dan cenderung mengalami banyak perubahan posisi saat simulasi dinamika molekul berlangsung. Nilai RMSF yang tinggi yang menandakan bahwa pada daerah tersebut merupakan daerah residu yang fleksibel.

Residu yang bersifat fleksibel merupakan bagian struktur coil sehingga mudah mengalami pergerakan karena struktur coil tidak memiliki ikatan hidrogen untuk mempertahankan struktur [39].

Tabel 2. Fluktuatif Nilai Rata-Rata Deviasi dan Rentang RMSD

Kode Ligan	Pergerakan Rata-rata Deviasi (Å)	Rentang RMSD (Å)
L15	0,754	0,212 – 1,260
L52	2,254	0,371 – 2,863
L54	0,669	0,185 – 0,893
L29	0,287	0,119 – 0,705
L25	1,463	0,357 – 2,329
Ligan Alami	0,558	0,146 – 1,823

Tabel 3. Nilai Fluktuasi Residu Asam Amino Sisi Aktif dan Komponen Energi MMGBSA

	Komponen Energi (kkal/mol)							Nilai RMSF Residu Asam Amino (Å)		
Kode Ligan	**ΔEVDW**	**ΔEEL**	**EGB**	**ESURF**	**ΔG Gas**	**Δ Solv**	**ΔTotal**	**Tyr35**	**Trp84**	**Arg167**
L15	-56,045	-10,231	13,572	-6,828	-66,276	6,744	-59,532	0,79	0,65	0,91
L52	-55,304	-6,000	14,775	-6,713	-61,480	8,063	-53,417	0,63	0,72	0,89
L54	-52,847	-21,694	21,408	-74,541	-74,541	15,202	-59,339	1,08	0,79	1,25
L29	-45,954	-3,390	17,656	-5,670	-49,344	11,986	-37,358	0,70	0,60	0,85
L25	-72,048	-84,361	95,800	-10,825	-156,409	84,975	-71,435	0,81	0,72	0,78
Ligan Alami	-62,218	-11,712	25,084	-7,341	-73,929	17,742	-56,187	0,75	0,93	0,75

Residu asam amino pada sisi aktif berada pada nilai ≤ 2 (Tabel 3), daerah yang stabil ditandai dengan bulatan berwarna merah antara lain Tyr35, Trp84, dan Arg167 (Gambar 3). Residu asam amino yang rendah menunjukkan adanya kestabilan interaksi pada daerah sisi aktif yang berikatan dengan senyawa uji karena atom-atom penyusun residu asam amino cenderung tidak banyak perubahan posisi pada saat simulasi dinamika molekul berlangsung.

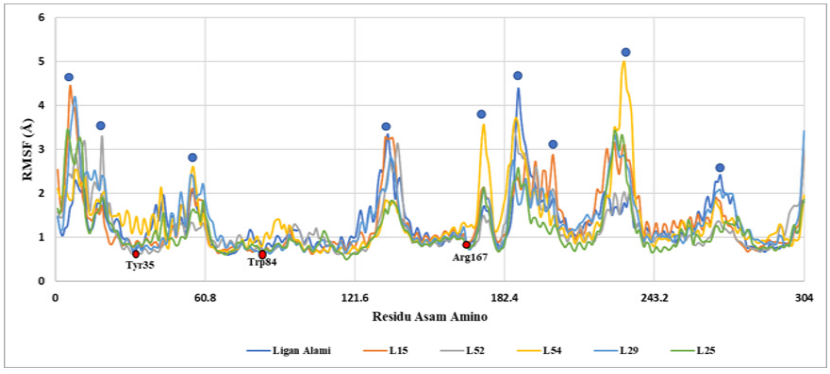
Pada residu sisi aktif protein cenderung tidak mengalami kenaikan RMSF yang signifikan selama proses simulasi. Sisi aktif mampu mempertahankan struktur karena memiliki ikatan hidrogen yang dapat menstabilkan posisi struktur[39]. Berdasarkan Gambar 3 dan Tabel 3 dapat disimpulkan, residu sisi aktif berada pada posisi yang stabil dengan nilai RMSF ≤ 2 Å.

3.6. MMGBSA

Analisis ini untuk menghitung energi bebas yang mengikat makromolekul dengan menggabungkan perhitungan mekanika molekuler dan model solvasi kontinum. Perhitungan MMGBSA ditentukan dengan interaksi energi bebas fase gas (ΔG Gas) menunjukkan bahwa kontribusi utama terhadap energi (ΔEVDW) antara reseptor AT1 dan ligan adalah energi van der waals. Hal ini ditunjukkan dengan kontribusi yang sesuai dari energi van der waals, yang lebih besar dari kontribusi energi elektrostatik (ΔEEL). Fase terlarut (ΔG gas) yang dimodelkan menggunakan model GB menunjukkan kontribusi energi ikat yang baik pada energi bebas pelarut polar (ΔG) untuk masing-masing kompleks. Berikut tabel hasil perhitungan Ikatan MMGBSA

Berdasarkan Tabel 3, ligan alami memiliki nilai energi total sebesar -56,1874 kkal/mol. Ligan uji yang memiliki nilai energi total lebih negatif dari ligan alami adalah L25, L15 dan L54 dengan nilai berturut-turut adalah -71,434 kkal/mol, -59,5323 kkal/mol, dan -59,3395 kkal/mol.

Nilai perhitungan energi yang rendah menunjukkan afinitas paling baik. Pengikatan yang kuat cenderung mengurangi mobilitas atom-atomnya mengikat dan menstabilkan area pengikatan protein[40]. Nilai ini menunjukkan besaran energi dari kompleks reseptor-ligan, energi reseptor, dan energi ligan. Selisih dari ketiga besaran energi yang dihasilkan merupakan besaran energi ikatan antara reseptor dengan ligan [41]. Berdasarkan pada Tabel 4 dapat disimpulkan, L25 (Centellasaponin B) memiliki energi total ikatan yang lebih negatif.



Gambar 3. Fluktuasi Residu di sekitar Atom Pengikatan

Berdasarkan hasil Analisis dekompisisi, didapat ligan alami memiliki tiga residu asam amino. Residu memberikan kontribusi tertinggi untuk energi bebas ikatan adalah Tyr35, Ser109, Arg167, Tyr 87, Ala21. Residu yang memiliki kriteria kontribusi energi yang baik adalah ΔGinteraksi residu ≤ -1,0 kkal/mol42. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa secara keseluruhan residu asam amino memiliki nilai interaksi residu yang baik. Selain itu, kompleks reseptor AT1 dan ligan alami sebagai acuan menunjukkan korelasi yang baik antara energi dekomposisi dan hasil penambatan molekul. Residu yang berkorelasi dengan kontribusi ikatan (penambatan molekul) pada sisi aktif reseptor Tyr35, Trp84, dan Arg16743. Berdasarkan Gambar 3 dapat disimpulkan, residu asam amino dengan nilai ΔGinteraksi residu terkecil adalah residu asama Arg16 pada ligan L54 (asam ursolic)

4. Kesimpulan

Berdasarkan penambatan molekul dari 54 senyawa uji terhadap reseptor AT1, didapatkan interaksi dan afinitas lima senyawa uji dengan nilai mendekati ligan alami yaitu L15, L52, L54 (asam ursolic), L29 (asam corosolic), dan L25 (centellasaponin B) dengan nilai Ki & ΔG berturut-turut adalah -10,79 kkal/mol & 0,01228 μm, -10,30 kkal/mol & 0,02828 μm, -10,01 kkal/mol & 0,04622 μm, -9,59 kkal/mol & 0,09286 μm, dan -9,18 kkal/mol & 1,3694 μm. Hasil pengujian simulasi dinamika molekuler, senyawa asam corosolic menunjukkan kestabilan interaksi yang baik dengan target, dan konstan dari awal simulasi hingga 100 ns, diperoleh nilai MMGBSA centellasaponin B, dengan nilai total energi terendah -71,4347 kkal/mol. Disimpulkan bahwa senyawa asam corosolic, dan centellasaponin B dari pegagan (*Centella asiatica* L.), teridentifikasi berpotensi sebagai senyawa pemandu yang memiliki afinitas dan stabilitas interaksi dengan reseptor AT1 sebagai antihipertensi.

Referensi

1. Saraswati, D R, Khariri. Transisi Epidemiologi Stroke Sebagai Penyebab Kematian Pada Semua Kelompok Usia Di Indonesia. J Kedokt. 2021;2(1):81-86. https://conference.upnvj.ac.id/index.php/sensorik/article/view/1001.
2. Saing JH. Hipertensi pada Remaja. Sari Pediatr. 2016;6(4):159. doi:10.14238/sp6.4.2005.159-65
3. Suprayitno1 E. Gambaran Status Tekanan Darah Penderita Hipertensi di Desa Karanganyar Kecamatan Kalianget Kabupaten Sumenep. J Heal Sci (Jurnal Ilmu Kesehatan). 2019;4(2):20-24. doi:10.24929/jik.v4i2.799
4. Emdat Suprayitno D. Journal of Health Science Gambaran Status Tekanan Darah Penderita Hipertensi di Desa. J Heal Sci. 2019;4(2):20-23.
5. Shimizu Y. Hypertension. WHO. https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hypertension. Published 2023. Accessed December 7, 2023.
6. Zahra N, Siregar FM. Prevalensi Prehipertensi dan Hipertensi pada Mahasiswa Profesi Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Riau Tahun 2020. J Kedokt dan Kesehat. 2023;19(1):50. doi:10.24853/jkk.19.1.50-64
7. Tirtasari, Silviana, Kodim, Nasrin. Prevalensi dan Karakteristik Hipertensi Pada Usia Dewasa Muda di Indonesia. Tarumanagara Med J. 2019;1(2):395-402.
8. Prieto-Martínez FD, Arciniega M, Medina-Franco JL. Acoplamiento Molecular: Avances Recientes y Retos. TIP Rev Espec en Ciencias Químico-Biológicas. 2018;21:65-87. doi:10.22201/fesz.23958723e.2018.0.143
9. Toreh RM, Kalangi SJR, Wangko S. Peran Kompleks Jukstaglomerulus Terhadap Resistensi Pembuluh Darah. J Biomedik. 2013;4(3):42-51. doi:10.35790/jbm.4.3.2012.1213
10. Brunton L. Goodman & Gilman ' s The Pharmacological Basis of Therapeutics. Goodman Gilman' s Pharmacol Basis Ther. 2011;(October):9-10.
11. Weber MA, Schiffrin EL, White WB, et al. Clinical practice guidelines for the management of hypertension in the community a statement by the american society of hypertension and the

international society of hypertension. J Hypertens. 2014;32(1):3-15. doi:10.1097/HJH.0000000000000065
12. Tan SC, Bhattamisra SK, Chellappan DK, Candasamy M. Actions and therapeutic potential of madecassoside and other major constituents of centella asiatica: A review. Appl Sci. 2021;11(18). doi:10.3390/app11188475
13. L Incandela 1, G Belcaro, A N Nicolaides, M R Cesarone, M T De Sanctis, M Corsi, P Bavera, E Ippolito, M Griffin, G Geroulakos, M Sabetai, G Ramaswami MV. Modification of the echogenicity of femoral plaques after treatment with total triterpenic fraction of Centella asiatica: a prospective, randomized, placebo-controlled trial. PubMed. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11666127/. Published 2001. Accessed December 7, 2023.
14. Razali, Nur Nadia Mohd, Ng Theng Chin FLY. Razali et al., 2019_ Cardiovascular Protective Effects of.pdf. 2019.
15. Sholihah DF, Wahyuningsih D, Dewi AR. POTENSI ANTIHIPERTENSI DEKOKTA PEGAGAN (Centella asiatica) DENGAN PENGHAMBATAN RESEPTOR ANGIOTENSIN II TIPE 1 (Studi in silico). J Kedokt Komunitas. 2015;3(1):156-163. https://docplayer.info/48254951-Potensi-antihipertensi-dekokta-pegagan-centella-asiatica-dengan-penghambatan-reseptor-angiotensin-ii-tipe-1-studi-in-silico.html.
16. Zoete V, Grosdidier A, Michielin O. Docking, virtual high throughput screening and in silico fragment-based drug design. J Cell Mol Med. 2009;13(2):238-248. doi:10.1111/j.1582-4934.2008.00665.x
17. Muttaqin FZ. Molecular Docking and Molecular Dynamic Studies of Stilbene Derivative Compounds As Sirtuin-3 (Sirt3) Histone Deacetylase Inhibitor on Melanoma Skin Cancer and Their Toxicities Prediction. J Pharmacopolium. 2019;2(2):112-121. doi:10.36465/jop.v2i2.489
18. Kapetanovic IM. Computer-aided drug discovery and development (CADDD): In silico-chemico-biological approach. Chem Biol Interact. 2008;171(2):165-176. doi:10.1016/j.cbi.2006.12.006
19. Muttaqin FZ. Studi Molecular Docking, Molecular Dynamic, Dan Prediksi Toksisitas Senyawa Turunan Alkaloid Naftiridin Sebagai Inhibitor Protein Kasein Kinase 2-A Pada Kanker Leukemia. Pharmacoscript. 2019;2(1):49-64. doi:10.36423/pharmacoscript.v2i1.241
20. Kocher J, Ultra C, Inventory CS. ChemBioOffice Ultra 2010 - A Great Benefit for Academia ChemBioDraw. 2010.
21. Pongajow NT, Juliandri, Hastiawan I. DENSITY FUNCTIONAL THEORY UNTUK PENENTUAN GEOMETRI DAN KARAKTERISTIK IKATAN DARI KOMPLEKS Ni(II)-DIBUTILDITIOKARBAMAT DAN Co(II)-DIBUTILDITIOKARBAMAT. Pros Semin Nas Sains dan Teknol Nukl. 2011;(Ii):268-273.
22. Case DA, Aktulga HM, Belfon K, Ben-Shalom IY, Brozell SR, Cerutti D. Amber 2021. Univ Calif Press. 2021. https://ambermd.org/doc12/Amber21.pdf.
23. Ischak NI, Ode LO, Hasan H, Kilo A La, Asnawi A. In silico screening of Andrographis paniculata secondary metabolites as anti-diabetes mellitus through PDE9 inhibition. Res Pharm Sci. 2023;18(1):100-111. doi:10.4103/1735-5362.363619
24. Ylilauri M and POT. Ylilauri & Pentikäinen, 2013_ MMGBSA as a tool to understand the binding affinities of filamin–peptide interactions.pdf.
25. Zhang H, Unal H, Desnoyer R, et al. Structural basis for ligand recognition and functional selectivity at angiotensin receptor. J Biol Chem. 2015;290(49):29127-29139. doi:10.1074/jbc.M115.689000
26. Vasudevan D, S S, Vaidyanathan K. Overview of Metabolism.; 2016. doi:10.5005/jp/books/13014_10
27. Anonim. Biovia Discovery Studio ® 2016 Comprehensive Modeling and

Simulations. 2016:4.
28. 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. doi:10.1016/j.addr.2012.09.019
29. Susanti NMP, Laksmiani NPL, Noviyanti NKM, Arianti KM, Duantara IK. Molecular Docking Terpinen-4-Ol Sebagai Antiinflamasi Pada Aterosklerosis Secara in Silico. J Kim. 2019:221. doi:10.24843/jchem.2019.v13.i02.p16
30. Fakih TM, Arumsari A, Dewi ML, Hazar N, Syarza TM. Simulasi Penambatan Molekuler Senyawa Kompleks Besi Terhadap Protein Hemofor sebagai Kandidat Fotosensitizer pada Terapi Fotodinamika. al-Kimiya. 2021;8(1):1-8. doi:10.15575/ak.v8i1.8502
31. Syahputra G, Ambarsari L, T S. Simulasi docking kurkumin enol, bisdemetoksikurkumin dan analognya sebagai inhibitor enzim12-lipoksigenase. Biofisika. 2014;10(1):55-67.
32. Cole JC, Murray CW, Nissink JWM, Taylor RD, Taylor R. Comparing Protein – Ligand Docking Programs Is Difficult. 2005;332(December 2004):325-332. doi:10.1002/prot.20497
33. Muttaqin FZ, Restisari IH, Muhammad HN. Study of Molecular Docking, Molecular Dynamic and Toxicity Prediction of Several Quinoline Alkaloid Derivatives as a Bruton Tyrosine Kinase Inhibitor as Anti-Leukemia. J Drug Deliv Ther. 2021;11(6-S):70-78. doi:10.22270/jddt.v11i6-s.5135
34. Zubair MS, Maulana S, Mukaddas A. Penambatan Molekuler dan Simulasi Dinamika Molekuler Senyawa Dari Genus Nigella Terhadap Penghambatan Aktivitas Enzim Protease HIV-1. J Farm Galen (Galenika J Pharmacy). 2020;6(1):132-140. doi:10.22487/j24428744.2020.v6.i1.14982
35. Chairunnisa A, Runadi D. Aktivitas kalkon terhadap reseptor estrogen ß (ERß) sebagai antikanker payudara secara in vitro dan in silico: review. Farmaka. 2016;14(2):1-15.
36. Arwansyah, Hasrianti. Simulasi Molecular Docking Senyawa Kurkumin dan Analognya Sebagai Selective Androgen Receptor Modulators (SARMs) Pada Kanker Prostat. J Din. 2014;5(2):60-75.
37. Sari IW, Junaidin J, Pratiwi D. STUDI MOLECULAR DOCKING SENYAWA FLAVONOID HERBA KUMIS KUCING (Orthosiphon stamineus B.) PADA RESEPTOR α-GLUKOSIDASE SEBAGAI ANTIDIABETES TIPE 2. J Farmagazine. 2020;7(2):54. doi:10.47653/farm.v7i2.194
38. Karyawati T, Ruswanto. Simulasi Dinamika Molekular Senyawa -2,6-Dimethyl-4-(2- Methyl-2,3-Dihydrobenzo[B][1,4]Thiazepin-4-Yl)Phenol Pada Protein 4N00 Sebagai Kandidat Sistem Saraf Pusat Menggunakan Aplikasi Gromac. 2009;2(1):1-118.
39. Putri D, Sofyan P, Imaduddin FI, Aini R, Zahro M, Juhaeri S. Studi Stabilitas Termal Mutan Phytase Q168R Menggunakan Simulasi Studi Stabilitas Termal Mutan Phytase Q168R Menggunakan Simulasi Dinamika Molekul. 2022;(May).
40. Genheden S, Ryde U. The MM/PBSA and MM/GBSA methods to estimate ligand-binding affinities. Expert Opin Drug Discov. 2015;10(5):449-461. doi:10.1517/17460441.2015.1032936
41. Yuniar L, Rachman SD, Soedjanaatmadja RUM. Chimica et Natura Acta. Chim Nat Acta. 2018;6(3):127-135.
42. Abdjan MI, Aminah S, Siswanto I. inhibitors of sirtuin1 enzyme using a molecular. 2021:19323-19332. doi:10.1039/d1ra02233d
43. Ma Y, Tao Y, Qu H, et al. Exploration of plant-derived natural polyphenols toward COVID-19 main protease inhibitors: DFT, molecular docking approach, and molecular dynamics simulations. 2022:5357-5368. doi:10.1039/d1ra07364h