

**PENAPISAN MAYA METABOLIT SEKUNDER TANAMAN OBAT INDONESIA
TERHADAP XANTIN OKSIDASE**

***VIRTUAL SCREENING SECONDARY METABOLITES OF INDONESIAN DRUG
PLANTS AGAINST XANTIN OKSIDASE***

Agustiani Masliyana¹ dan Andrianopsyah Mas Jaya Putra^{1*}

¹Fakultas Farmasi Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta

*Email: bursariset@gmail.com

ABSTRAK

Virtual screening (penapisan maya) merupakan salah satu metode komputasi untuk menemukan senyawa yang paling berpotensi mengikat protein target tertentu. Pada penelitian ini basis data struktur metabolit sekunder tanaman obat Indonesia yang telah dipreparasi ditapis pada model farmakofor yang telah divalidasi secara *in silico*. Hasil penapisan maya menunjukkan terdapat 10 metabolit sekunder yang dinyatakan sebagai *hits* dan direkomendasikan sebagai kandidat inhibitor xantin oksidase secara *in silico*, yakni *Resorcinol*, *Phloroglucinol*, *Pyrogallol*, *Pyrocatechol*, *Butein*, *Benzyl Salicylate*, *Okanin*, *7-Methoxycoumarin*, *4-Hydroxybenzaldehyde* dan *4-Hydroxybenzoic Acid*.

Kata kunci: penapisan maya, xantin oksidase, metabolit sekunder, farmakofor dan *hits*.

ABSTRACT

Virtual screening is one of computational methods to find the most potential compounds binding to a particular target protein. In this research, the secondary metabolite structure data base of Indonesia medicinal plants that has been prepared was screened against pharmacopore model that has been validated. The result of virtual screening shows that there are 10 secondary metabolites expressed as hits and recommended as candidates of xanthine oxidase inhibitors, i.e. Resorcinol, Phloroglucinol, Pyrogallol, Pyrocatechol, Butein, Benzyl Salicylate, Okanin, 7-Methoxycoumarin, 4-Hydroxybenzaldehyde and 4-Hydroxybenzoic Acid.

Key words: secondary metabolite, xanthine oxidase, pharmacopore, virtual screening, hits.

PENDAHULUAN

Hiperurisemia adalah keadaan dimana terjadi peningkatan kadar asam urat di atas normal. Konsentrasi asam urat yang normal adalah 3,6 – 8,2 mg/dL untuk pria dan 2,3 – 6,1 mg/dL untuk wanita. Hiperurisemia yang berkepanjangan dapat menyebabkan *gout* atau nyeri pada persendian yang ditandai dengan adanya penumpukan kristal monosodium urat pada jaringan akibat peningkatan kadar asam urat (Dipiro *et al.*, 2008; Setyoningsih, 2009).

Menurut hasil Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) tahun 2007 dan 2013, tampak kecenderungan peningkatan prevalensi Penyakit Tidak Menular seperti penyakit sendi/rematik/encok, dan fenomena ini diprediksi akan terus berlanjut (Kemenkes RI, 2017). Oleh karena prevalensi penyakit sendi/rematik/encok cenderung meningkat maka upaya pencegahan sebaiknya dilakukan sedini mungkin.

Pengobatan hiperurisemia dapat dilakukan dengan menghambat pembentukan xantin dari senyawa hipoksantin dan menghambat pembentukan asam urat dari xantin, misalnya dengan pemberian allopurinol. Namun dalam penggunaannya allopurinol dapat menimbulkan efek samping yaitu ruam kulit, demam, dan leukopenia (Priyanto, 2008; Dipiro *et al.*, 2008). Oleh karena itu, penting untuk ditemukannya alternatif pengganti allopurinol sebagai inhibitor xantin oksidase dari tanaman obat Indonesia dengan melakukan pencarian obat baru yang mempunyai efek samping lebih rendah. Sebagai contoh dapat menggunakan pengobatan tradisional dalam mengurangi gejala hiperurisemia menggunakan tanaman herbal yang kaya akan sumber senyawa kimia alami seperti senyawa metabolit sekunder dan dapat dijadikan sebagai rujukan dalam pencarian dan pengembangan obat-obatan (Misnadiarly, 2008; Yuhernita & Juniarti, 2011).

Berdasarkan sejarah, penemuan obat baru diperoleh melalui sistem *screening* secara farmakologi menggunakan hewan coba, namun dengan banyaknya senyawa yang ada, hal ini sangat tidak efisien untuk tetap dilakukan (Wolff, 1996). Kemajuan teknologi informasi pada saat ini dapat dijadikan alternatif sebagai tahap awal dalam rangkaian pencarian kandidat calon obat. secara *in silico* dengan metode *virtual screening* (Pamudi, 2011).

Berdasarkan hal tersebut, maka dilakukan penelitian penapisan maya berdasarkan farmakofor basis data metabolit sekunder dari tanaman obat Indonesia terhadap xantin oksidase, yang dapat direkomendasikan sebagai kandidat untuk dikembangkan secara lebih lanjut dalam pencarian dan pengembangan obat hiperurisemia baru.

BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari perangkat keras dan perangkat lunak. Perangkat keras yang digunakan adalah laptop Acer[®] Aspire[®] 4253 dengan spesifikasi sistem 32-bit, prosesor AMD[®] Vision™ E-350, *Random Access Memory* (RAM) 2 GB, kartu grafis AMD[®] Radeon™ HD 6310 dan laptop Lenovo™ Ideapad™ 300S dengan spesifikasi sistem 64-bit, prosesor Intel[®] Celeron[®] N3050, *Random Access Memory* (RAM) 2 GB dan kartu grafis Intel[®] HD Graphics. Dan perangkat lunak yang digunakan adalah sistem operasi Microsoft[®] Windows[®] 7 Home Premium dan Microsoft[®] Windows[®] 10 Home, peramban Mozilla[®] Firefox[®] 53.0.2. Perangkat lunak CDK Descriptor Calculator, Discovery Studio 4.1 Visualizer, Spores, UCSF Chimera 1.10.2, OpenBabel, Cygwin, dan LigandScout 4.1.10.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah struktur metabolit sekunder tanaman obat Indonesia (<http://proseanet.org/prosea/e-prosea.php>) (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), struktur kristal tiga dimensi xantin oksidase (<https://www.rcsb.org/>) serta kontrol positif (+) yakni Allopurinol (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dan kontrol negatif berupa *decoys*.

Preparasi Basis Data Metabolit Sekunder

1. Pencarian Struktur Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder tanaman obat Indonesia dicari pada situs web E-Prosea (<http://proseanet.org/prosea/e-prosea.php>) berdasarkan pustaka-pustaka tanaman obat Indonesia. Selanjutnya dilakukan pencarian struktur kimianya dalam bentuk tiga dimensi

pada PubChem (<http://pubchem.ncbi.nlm.gov>) dan diunduh dalam format .sdf (Wang *et al.*, 2010).

2. Penyeleksian Berdasarkan Aturan Lipinski

Struktur kimia metabolit sekunder diseleksi berdasarkan aturan Lipinski menggunakan perangkat lunak CDK Descriptor Calculator berdasarkan kriteria (Lipinski *et al.*, 2001 & Lipinski, 2004): (1) berat molekul < 500, (2) logP < 5, (3) jumlah donor ikatan hidrogen < 5 dan (4) jumlah akseptor ikatan hidrogen < 10.

3. Pengoptimasian Metabolit Sekunder

Optimasi struktur tiga dimensi metabolit sekunder dilakukan menggunakan perangkat lunak Discovery Studio 4.1 Visualizer berupa pengoptimalan geometri, SPORES berupa protonasi, UCSF Chimera 1.10.2 berupa konversi format ke .mol2 dan OpenBabel berupa pembentukan konformasi (Sotriffer *et al.*, 2011).

4. Pembuatan Basis Data Metabolit Sekunder

Konformasi metabolit sekunder kemudian diubah menjadi satu kumpulan data (Basis Data) dengan format .ldb dengan menggunakan perangkat lunak LigandScout 4.1.10 (Sotriffer *et al.*, 2011). Basis data metabolit sekunder yang telah dibuat kemudian siap untuk ditapis pada model farmakofor yang valid.

Pencarian Struktur Protein Target

Pencarian struktur kristal tiga dimensi xantin oksidase dilakukan pada situs web Bank Data Protein (<https://www.rcsb.org/>) berdasarkan kriteria (Sotriffer *et al.*, 2011): (1) Bentuk Struktur Kristal; (2) Berkompleks Dengan Substrat atau Ligan; (3) Metode *X-Ray Diffraction*; (4) Resolusi $\leq 2,5$ Å. Struktur kristal tiga dimensi yang memenuhi kriteria selanjutnya diunduh dalam format .pdb agar dapat dilakukan pemodelan farmakofor.

Pemodelan Farmakofor

Struktur kristal tiga dimensi xantin oksidase dilakukan pemodelan farmakofor dan penambahan molekul-molekul yang membentuk ruang dari situs aktif xantin oksidase menggunakan perangkat lunak LigandScout 4.1.10 (Wolber, 2005). Pemodelan farmakofor dilakukan berdasarkan fitur farmakofor yang terbaca pada LigandScout dengan batasan jarak fitur terdekat. Hasil pemodelan farmakofor digunakan sebagai penyaring basis data metabolit sekunder dari tanaman obat Indonesia setelah divalidasi.

Validasi Model Farmakofor

Validasi model farmakofor menggunakan kontrol positif Allopurinol dan kontrol negatif berupa *decoys* dilakukan dengan tahap sebagai berikut (Mas Jaya Putra, 2010):

- a. Struktur tiga dimensi senyawa kontrol (+/-) dicari pada situs web PubChem (<http://pubchem.ncbi.nlm.gov>) dan diunduh dalam format .sdf.
- b. Struktur kontrol (+/-) yang didapat pada tahap pertama diproses menggunakan Discovery Studio 4.1 Visualizer, SPORES, UCSF Chimera 1.10.2, dan OpenBabel.
- c. Senyawa kontrol (+/-) yang telah dipreparasi kemudian pada perangkat lunak LigandScout 4.1.10 dibuat *library* dalam format .ldb dan ditapis pada model farmakofor yang telah dibuat.

Penapisan Maya

Penapisan maya dilakukan dengan menapisikan basis data metabolit sekunder pada model farmakofor yang telah dibuat dan divalidasi menggunakan perangkat lunak LigandScout 4.1.10, kemudian hasil yang diperoleh (*hits*) disimpan untuk dianalisis. Opsi dalam proses penapisan maya yakni (Wolber, 2005): (1) Fungsi penilaian hanya mempertimbangkan fitur farmakofor; (2) Penapisan dilakukan dengan mencocokkan terhadap semua fitur; (3) Pengambilan hasil penapisan dilakukan dengan mengambil semua konformasi yang cocok terhadap model farmakofor; (4) Jumlah minimal kecocokan 3 fitur (5) *Exclusion Volumes Coat* diaktifkan selama berjalannya proses penapisan.

Analisis Hasil Penapisan Maya

Analisa dilakukan menggunakan perangkat lunak LigandScout 4.1.10. untuk memeringkatkan hasil penapisan maya, berdasarkan Skor Kecocokan Farmakofor dan Kesesuaian Fitur Farmakofor. Hasil dinyatakan sebagai *Hit* yang nantinya dapat direkomendasikan sebagai senyawa kandidat inhibitor xantin oksidase secara *in silico*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Basis Data Metabolit Sekunder

1. Pencarian Struktur Metabolit Sekunder

Pencarian difokuskan hanya pada metabolit sekunder khususnya yang terdapat pada tanaman obat Indonesia yang mudah diperoleh dan tidak tumbuh secara musiman agar memudahkan pada proses pengembangan penelitian. Pencarian tanaman obat Indonesia dilakukan berdasarkan pustaka-pustaka tanaman obat Indonesia seperti Farmakope Herbal (Depkes RI, 2008), 100 Plus Herbal Indonesia (Trubus, 2013), Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 1 hingga Jilid 5 (Dalimartha 1999; Dalimartha 2000; Dalimartha 2003; Dalimartha 2006 & Dalimartha 2008), Taksonomi Koleksi Tanaman Obat Kebun Tanaman Obat Citeureup (Aspan, 2008), Tumbuhan Obat Halimun (Kelompok Masyarakat Desa Sirnasari, 2008), Buku Pintar Tanaman Obat (Agromedia, 2008) dan 262 Tumbuhan Obat & Khasiatnya (Hariana, 2013). Berdasarkan hasil pencarian pada pustaka-pustaka tanaman obat Indonesia diperoleh 468 jenis tanaman obat Indonesia.

Pencarian kandungan metabolit sekunder pada 468 jenis tanaman obat Indonesia dilakukan pada situs web E-Prosea. Hal ini dikarenakan, E-Prosea berisikan informasi sumber daya tanaman di Indonesia dan deksripsi kandungan dari tanaman. Sebanyak 1501 jenis metabolit sekunder ditemukan pada situs web E-Prosea, namun hanya pada 85 tanaman Indonesia. Metabolit sekunder ini selanjutnya dilakukan pencarian struktur kimianya yang difokuskan pada struktur tiga dimensi, pada situs web PubChem (Wang *et al.*, 2010) Pencarian struktur kimia metabolit sekunder dilakukan pada situs web PubChem karena merupakan gudang informasi struktur kimia berbagai senyawa yang dilengkapi dengan catatan bioassay (Xie, 2010). Sebanyak 913 metabolit sekunder yang ditemukan struktur kimianya pada pencarian melalui situs web PubChem kemudian diunduh dalam format .sdf untuk dilakukan penyeleksian sebelum dioptimasi.

2. Penyeleksian Berdasarkan Aturan Lipinski

Struktur tiga dimensi metabolit sekunder diseleksi dengan aturan Lipinski menggunakan perangkat lunak CDK Descriptor Calculator berdasarkan kriteria diantaranya: (1) Berat Molekul (BM) < 500 yang berkaitan dengan permeabilitas senyawa terhadap membran sel usus dan sawar darah otak; (2) LogP < 5, untuk menganalisis sifat fisikokimia pada kemampuan absorpsi; (3) jumlah donor ikatan hidrogen < 5 dan jumlah akseptor ikatan hidrogen < 10, yang juga dapat mempengaruhi permeabilitas untuk menembus membran sel (Lipinski *et al.*, 2001 & Lipinski, 2004).

Setelah dilakukan penyeleksian, diperoleh 582 metabolit sekunder yang berhasil lolos aturan Lipinski. Hal ini menunjukkan 331 metabolit sekunder pada tanaman obat Indonesia yang masih kurang baik sifat farmakokinetiknya. Struktur tiga dimensi metabolit sekunder yang lolos tersebut kemungkinan besar memiliki sifat mirip obat (*druglikeness*) yang bertujuan untuk meningkatkan kemungkinan keberhasilan dalam penemuan dan pengembangan obat secara rasional (Sotriffer *et al.*, 2011).

3. Pengoptimasian Metabolit Sekunder

Optimasi pada penelitian ini hanya dilakukan pada 582 metabolit sekunder yang memenuhi aturan lipinski karena memiliki sifat farmakokinetik yang baik. Optimasi dilakukan dengan beberapa perangkat lunak. Perangkat lunak dan proses yang dilakukan disesuaikan dengan kebutuhan optimasi pada penelitian. Mayoritas perangkat lunak penapisan maya saat ini membutuhkan konformasi dalam bentuk tiga dimensi sebagai struktur masukan. Oleh karena itu perlu untuk memperluas representasi senyawa dari dua dimensi ke dalam koordinat tiga dimensi (Rapp *et al.*, 2009; Brink & Exner, 2010).

Tahap pertama dalam optimasi metabolit sekunder dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak Discovery Studio 4.1 Visualizer. Dengan perangkat lunak ini dapat dilakukan perubahan struktur dua dimensi metabolit sekunder menjadi struktur tiga dimensi. Kemudian struktur metabolit sekunder tersebut disimpan sebagai format .mol2. Sehingga dapat digunakan sebagai struktur masukan dalam penelitian. Selain itu, perangkat lunak ini dapat digunakan untuk mengoptimalkan fleksibilitas dan stabilitas jarak atom dan sudut molekul. Hal ini bertujuan untuk menghindari gaya tolak menolak antar atom bermuatan sejenis yang saling berdekatan dan mempercepat dalam proses pembentukan konformasi karena jika susunan atom dalam keadaan stabil maka energi yang diperlukan sangat rendah (Chem Viz, 2000).

Faktor yang juga penting dalam keberhasilan penapisan maya yakni senyawa yang bersifat tautomerik, stereoisomer, dan protonasi. Oleh karena itu pada tahap kedua dalam optimasi adalah protonasi dengan menggunakan perangkat lunak SPORES. Dengan SPORES dapat dilakukan pemodelan pH kompleks protein-ligan/substrat saat terjadinya interaksi. Kondisi fisiologis kompleks protein ligan pada kebanyakan kasus mendekati pH 7, dimana gugus asam biasanya dalam keadaan terdeprotonasi dan gugus basa dalam keadaan terprotonasi (Gastreich *et al.*, 2005). Oleh karena itu penting dilakukannya simulasi seperti dengan menggunakan SPORES, pada saat metabolit sekunder masuk kedalam tubuh dan kemudian berinteraksi pada target pada kondisi dimana pada tubuh banyak mengandung air (H₂O). Metabolit sekunder yang berkontak dengan air akan mengalami protonasi dengan cara penambahan H⁺ pada atom, molekul, atau ionnya (Zumdahl, 1986).

Metabolit sekunder yang telah terprotonasi selanjutnya dikonversi ke format .mol2 dengan menggunakan perangkat lunak UCSF Chimera 1.10.2. Tujuan dilakukannya

pengkonversian ini untuk menambahkan nama atom, jenis atom dan jenis ikatan serta menata titik koordinat (x, y, z) atom yang akurat dari hasil pemodelan struktur suatu senyawa dalam analisis komputasi kimia farmasi (Yang, 2015).

Tahap terakhir pada optimasi metabolit sekunder yakni pembentukan konformasi dengan menggunakan perangkat lunak OpenBabel. Dilakukannya pembentukan konformasi ini dikarenakan sebagian besar molekul mengandung unsur struktural (obligasi yang dapat diputar, cincin alifatik) yang secara intrinsik fleksibel. Oleh karena itu, molekul yang fleksibel harus ditunjukkan oleh konformer yang relevan secara fisik dari suatu struktur senyawa (Chen dan Nicolas, 2011). Dengan perangkat lunak OpenBabel dapat dilakukan penataan ruang tertentu dari atom-atom dalam molekul melalui rotasi ikatan tunggal dari struktur metabolit sekunder sehingga diperoleh bentuk konformasi yang cocok untuk dapat berinteraksi dengan protein target (Burkert & Allinger, 1982; Gelbin *et al.*, 1996).

4. Pembuatan Basis Data Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder yang sudah dioptimasi kemudian diubah menjadi kumpulan metabolit sekunder dalam satu data (*Library*) dalam format .ldb dengan menggunakan LigandScout 4.1.10 untuk mempermudah penapisan terhadap lebih dari satu basis data secara bersamaan (Yakar, 2013).

Pencarian Struktur Protein Target

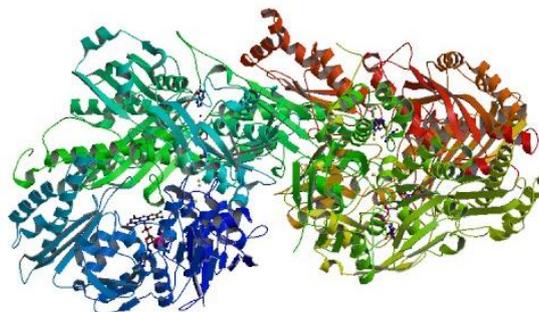
Pencarian makromolekul xantin oksidase yang sesuai dilakukan pada laman *Protein Data Bank* (PDB) atau Bank Data Protein. Laman ini digunakan sebagai media dalam melakukan pencarian struktur protein target dalam penelitian dikarenakan makromolekul yang disediakan dapat diakses secara gratis serta dilengkapi dengan data eksperimental dari struktur tiga dimensi yang dapat digunakan pada uji *in silico* seperti penapisan maya berdasarkan farmakofor (Kouranov, *et al.*, 2006).

Kriteria dalam pemilihan makromolekul target yakni struktur kristal tiga dimensi yang merupakan kompleks protein-ligan dan dihasilkan melalui metode Kristalografi *X-Ray*. Struktur kristal dari metode ini dipilih karena disempurnakan tanpa menggunakan pengekanan pada tahap akhir sehingga memberikan geometri molekul yang akurat. Selain itu, resolusi dari struktur kristal tiga dimensi xantin oksidase harus $\leq 3 \text{ \AA}$ (Perola *et al.*, 2005). Resolusi tersebut dikutip sebagai jarak Angstrom karena mencerminkan jarak terkecil antara bidang difraksi. Refleksi sudut yang rendah dipisahkan oleh jarak yang lebih tinggi, sehingga resolusi dengan nilai yang lebih besar menunjukkan difraksi sudut yang lebih rendah.

Kriteria diatas merupakan kriteria primer dalam pemilihan target karena semakin banyaknya data protein yang tersedia, sehingga perlu diterapkan suatu kriteria agar protein target yang digunakan sesuai (Perola *et al.*, 2005). Kriteria terakhir yang juga dipertimbangkan dalam pemilihan struktur xantin oksidase adalah makromolekul berkompleks dengan substrat atau ligan. Hal ini diperlukan sehingga situs ikatan dan pola interkasinya dapat dengan mudah diketahui dalam pemodelan farmakofor dan memiliki konformasi dalam bentuk aktif (Syahdi, 2011).

Dari hasil pencarian berdasarkan kriteria yang telah ditentukan dalam penelitian maka makromolekul target yang digunakan dalam penelitian ini adalah protein dengan identitas PDB 3NRZ. Makromolekul 3NRZ adalah struktur kristal dari xantin oksidase *bovine* yang berkompleks dengan hipoxantin, yang merupakan substratnya. Protein yang termasuk

kedalam klasifikasi oksidoreduktase ini, merupakan heteroheksamer yang terdiri atas 2.450 residu asam amino. Terdapat enam subunit xantin oksidase dalam struktur kristalnya yakni: rantai A dan J dengan panjang tiap subunit 164 residu asam amino; rantai B dan K dengan panjang tiap subunit 305 residu asam amino; rantai C dan L dengan panjang tiap subunit 756 residu asam amino. Makromolekul ini memiliki eksperimen data menggunakan metode *X-Ray Diffraction* dengan resolusi 1,8 Å dan menempati volume sebesar 13,3 x 7,4 x 13,9 nm³ (Cao *et al.*, 2010).



Gambar 1. Struktur Kristal Xantin Oksidase dari *Bovine* Berkompleks dengan Hipoxantin (Cao *et al.*, 2010)

Makromolekul 3NRZ yang telah diunduh kemudian dilakukan pemeriksaan homolog terhadap sekuens manusia. Pemeriksaan dilakukan pada UniProt dengan penelusuran BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*). Tujuan dilakukannya pemeriksaan homolog adalah untuk memastikan sekuens enzim xantin oksidase *bovine* memiliki kemiripan dengan sekuens enzim xantin oksidase manusia. Sehingga makromolekul target yang digunakan merupakan bentuk pendekatan terhadap makromolekul dalam tubuh manusia. Kriteria sekuens homolog yang harus dipenuhi oleh makromolekul target untuk dapat digunakan adalah > 25% (Hodgman *et al.*, 2010).

Parameter lain yang dapat digunakan untuk menentukan sekuens yang homolog adalah *E-value*. *E-value* dapat membandingkan dua sekuens dengan lebih obyektif dibandingkan dengan persentasi kemiripan. Dalam BLAST *E-value* yang sangat rendah yakni kurang dari 10⁻⁴ (0,0001) menunjukkan bahwa dua sekuens tersebut merupakan sekuens yang homolog (Tennant, 2007).

Pemeriksaan Homolog makromolekul 3NRZ yang dilakukan pada UniProt dengan penelusuran BLAST menghasilkan nilai sebesar 89,6% dengan *E-value* sebesar 0,0. Hasil tersebut menunjukkan bahwa sekuens makromolekul 3NRZ memiliki kemiripan dengan sekuens pada manusia, dan dapat digunakan sebagai makromolekul target dalam penelitian ini.

Pemeriksaan lainnya yang dapat dilakukan untuk memperkuat alasan penggunaan makromolekul 3NRZ sebagai protein target adalah dengan melakukan penelusuran ketersediaan produk. Penelusuran produk protein target dilakukan situs web Sigma Aldrich (www.sigmaaldrich.com) yang merupakan perusahaan yang menyediakan bahan kimia, ilmu hayati dan bioteknologi. Hal ini bertujuan untuk menelusuri ketersediaan produk xantin oksidase yang berasal dari *bovine* atau susu segar seekor sapi, sehingga dapat dipastikan bahwa sumber makromolekul yang digunakan dalam uji *in silico* dengan metode penapisan maya sesuai dengan uji *in vitro* yang dilakukan secara terpisah (Oprea *et al.*, 2005).

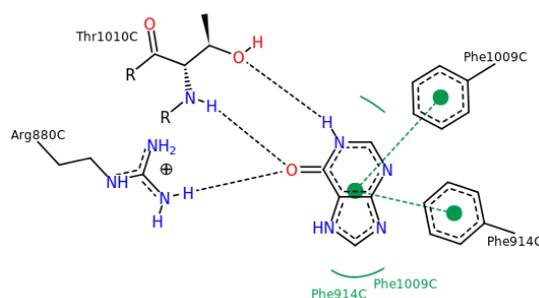
Hasil penelusuran produk pada Sigma-Aldrich menunjukkan terdapat 4 produk enzim yang berasal dari susu *bovine* dengan berbagai mutu dan 1 produk bubuk terliofilisasi (Sigma-Aldrich, 2017). Hasil ini menunjukkan bahwa makromolekul 3NRZ dapat digunakan sebagai protein target.

Pemodelan Farmakofor

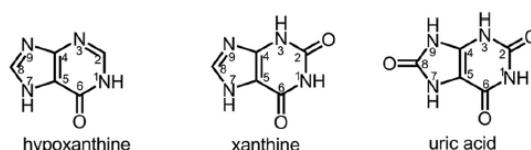
Makromolekul 3NRZ dalam format .pdb dimodelkan berdasarkan interaksi yang terjadi antara xantin oksidase yang dijembatani oleh beberapa asam amino dengan gugus fungsional pada hipoxantin (Cao *et al.*, 2010). Pada area interaksi tersebut kemudian ditambahkan *Exclusion Volumes Coat* untuk menambahkan molekul-molekul yang membentuk ruang dari situs aktif yang berasal dari lingkaran makromolekul (Wolber, 2005; 2006). Selain itu, ini juga berfungsi sebagai syarat tambahan dalam hal kesesuaian bentuk dan volume yang dapat mempertegas hasil kecocokan berdasarkan farmakofor yang harus dipenuhi oleh metabolit sekunder sebagai *hit*.

Farmakofor awal ini memiliki keseluruhan fitur sebanyak lima fitur yang terdiri dari dua interaksi akseptor ikatan hidrogen (Aks) yang berinteraksi terhadap asam amino Thr1010C, Arg880C serta dengan kofaktor molibdenum (Dioxothiomolybdenum(VI) Ion / MOS1328C). Selain itu, terdapat satu donor ikatan hidrogen (Don) yang berinteraksi terhadap asam amino Thr1010C; serta 2 interaksi aromatik dengan cincin (Aro) terhadap asam amino Phe914C dan Phe1009C (Cao *et al.*, 2010).

Fitur farmakofor awal tersebut kemudian perlu dilakukan penyeleksian terlebih dahulu berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Cao (2010) terhadap gugus-gugus fungsional yang berperan dalam melakukan interaksi dengan xantin oksidase. Menurut Cao (2010), mekanisme reaksi katalisis xantin oksidase dibantu oleh kofaktor molibdenum pada pusat situs aktifnya akan mengoksidasi secara hidroksilasi hipoxantin pada C-2 untuk membentuk xanthine, dan xanthine kemudian dikonversi menjadi asam urat dengan hidroksilasi pada C-8.



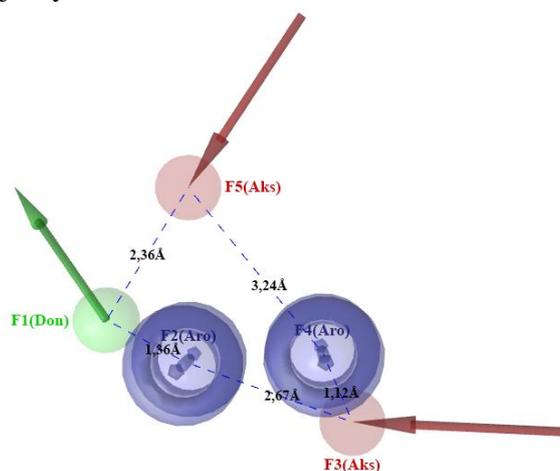
Gambar 2. Interaksi Gugus-gugus Fungsional dari Hipoxantin dengan Asam-asam Amino (Cao *et al.*, 2010)



Gambar 3. Struktur Kimia dan Skema Penomoran Purin

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Cao (2010), maka fitur farmakofor yang digunakan yakni 2 interkasi aromatik dengan cincin (Aro) (F2 dan F4) terhadap Phe914C dan Phe1009C serta memegang peranan penting dalam pengubahan hipoxantin menjadi xantin hingga asam urat. Kemudian dua interaksi akseptor ikatan hidrogen (Aks) (F3 dan F5) terhadap Thr1010C dan Arg880C, serta secara langsung terhadap molibdenum (Dioxothiomolybdenum(VI) Ion / MOS1328C) yang merupakan kofaktor yang berperan dalam membantu proses reaksi oksidasi (Martoharsono, 1984). Dan terakhir satu donor ikatan hidrogen (Don) (F1) terhadap Thr1010C yang menjembatani interaksi xantin oksidase dan gugus fungsional hipoxantin (Wolber, 2005).

Selanjutnya dilakukan pengukuran jarak antara tiap fitur yang merupakan syarat yang harus dimiliki oleh pose metabolit sekunder untuk dapat menyesuaikan fitur-fitur farmakofor (Mas Jaya Putra, 2010). Jarak yang dapat diketahui yaitu pada posisi F1-F2 sebesar 1,66 Å, F2-F3 sebesar 2,67 Å, F3-F4 sebesar 1,12 Å, F4-F5 sebesar 3,24 Å dan F5-F1 sebesar 2,36 Å (Gambar 4.). Fitur farmakofor ini kemudian disimpan sebagai format .pmz untuk dilakukan validasi pada tahap selanjutnya.



Gambar 4. Jarak Tiap Fitur Farmakofor Hipoxantin

Validasi Model Farmakofor

Validasi dilakukan untuk memastikan model farmakofor sudah yang dibuat dapat menyaring dengan selektif metabolit sekunder berdasarkan fitur farmakofor. Validasi dilakukan dengan menggunakan kontrol positif yakni Allopurinol, penghambat xantin oksidase dengan IC_{50} $7,82 \pm 0,12 \mu M$ (Haidari *et al.*, 2009). Kemudian pada kontrol negatif peneliti menggunakan senyawa-senyawa inaktif/umpan berupa senyawa-senyawa yang memiliki struktur mirip dengan hipoxantin sebagai pengganti *decoys*. Hal ini dilakukan karena pada pada situs web DudDocking tidak tersedia *decoys* untuk xantin oksidase (Huang *et al.*, 2006).

Allopurinol dan senyawa-senyawa kontrol negatif kemudian dipersiapkan seperti halnya pada preparasi metabolit sekunder yakni dengan melakukan pencarian, pengoptimasian dan pembuatan basis data sehingga tidak terdapat perbedaan perlakuan yang nantinya mempengaruhi hasil validasi dan penapisan. Penyeleksian berdasarkan aturan lipinski tidak dilakukan terhadap Allopurinol dikarenakan merupakan obat yang sudah beredar dipasaran berdasarkan rekomendasi FDA, yang tentunya sudah melewati tahap Uji

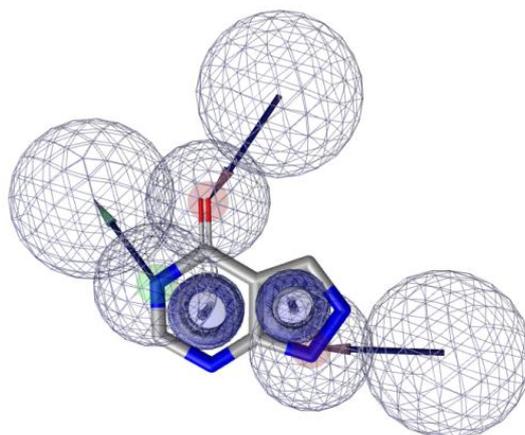
Pra-Klinik dan Uji Klinik. Sedangkan pada kontrol negatif tidak dilakukan penyeleksian berdasarkan aturan lipinski karena merupakan senyawa inaktif/umpan.

Senyawa-senyawa kontrol yang telah dibuat pustaka basis data dalam format .ldb pada perangkat lunak LigandScout 4.1.10. selanjutnya ditapis pada model farmakofor hipoxantin untuk mengetahui seberapa baik kemampuan model farmakofor tersebut untuk membedakan senyawa kontrol positif dan negatif.

Validasi terhadap model farmakofor hipoxantin menggunakan kontrol (+/-) menunjukkan hanya Allopurinol yang merupakan kontrol positif yang tersaring karena memiliki gugus-gugus fungsional yang mirip dengan fitur farmakofor pada hipoxantin. Hasil Validasi kemudian dianalisa berdasarkan skor kecocokan farmakofor dan kesesuaian fitur farmakofor untuk mengevaluasi kemiripan keduanya.

Skor kecocokan Allopurinol terhadap model farmakofor hipoxantin sebesar 56,00 dan memenuhi semua kesesuaian fitur yakni F4, F2, F3, F5 dan F1. Sehingga, fitur utama farmakofor hipoxantin adalah F4, F2, F3, F5 dan F1 karena semuanya dipenuhi oleh senyawa kontrol positif yang merupakan inhibitor xantin oksidase.

Selanjutnya dilakukan perhitungan nilai sensitivitas dan 1-spesifisitas berdasarkan hasil validasi untuk mengetahui seberapa valid model farmakofor hipoxantin. Dari hasil perhitungan, didapatkan nilai sensitivitas sebesar 100% (1) dan 1-spesifisitas sebesar 100% (1) dengan tersaringnya Allopurinol yang merupakan kontrol positif dan tidak tersaringnya senyawa-senyawa inaktif/umpan. Maka model farmakofor hipoxantin valid, dengan F4, F2, F3, F5 dan F1 sebagai fitur utama farmakofor yang direkomendasikan untuk digunakan sebagai penyaring basis data metabolit sekunder tanaman obat Indoneisa dalam penapisan maya berdasarkan farmakofor.



Gambar 5. Penjajaran Allopurinol dengan Model Farmakofor Hipoxantin

Penapisan Maya

Proses penapisan maya dilakukan dengan beberapa opsi sebagai pertimbangan untuk menemukan hasil penyaringan secara cepat dan akurat. Opsi pertama adalah Fungsi Penilaian hanya mempertimbangkan fitur farmakofor sebagai parameter yang umumnya digunakan untuk mengevaluasi kemiripan dua buah struktur berdasarkan farmakofor dan perbedaan jarak atom yang sejenis. Kedua, penapisan dilakukan dengan mencocokkan pada semua fitur yaitu tiap bagian metabolit sekunder dari basis data dipasangkan pada tiap fitur model

farmakofor hipoxantin. Ketiga, mengambil semua konformasi yang cocok terhadap model farmakofor dinyatakan sebagai *hit*. Keempat, jumlah minimal kecocokan antara metabolit sekunder dengan model farmakofor hipoxantin adalah 3 fitur. Kelima, *Exclusion Volumes Coat* diaktifkan selama proses penapisan sebagai syarat tambahan dalam hal kesesuaian bentuk dan volume yang dapat mempertegas hasil kecocokan berdasarkan farmakofor yang harus dipenuhi metabolit sekunder sebagai *hit* (Wolber, 2005).

Penapisan maya berdasarkan farmakofor hipoxantin yang valid terhadap basis data metabolit sekunder tanaman obat Indonesia dalam penelitian ini memberikan hasil sebanyak 10 metabolit sekunder yang tersaring dan dinyatakan sebagai *hits*.

Analisis Hasil Penapisan Maya

Sepuluh metabolit sekunder yang berhasil tersaring dan dinyatakan sebagai *hits* dari penapisan maya berdasarkan model farmakofor hipoxantin terhadap 582 metabolit sekunder tanaman obat Indonesia diperingkat berdasarkan skor kecocokan farmakofor dan kesesuaian fitur farmakofor sehingga dapat direkomendasikan sebagai kandidat inhibitor xantin oksidase secara *in silico*. (Tabel 1.).

Tabel 1. Hasil Penapisan Maya

Nama	Skor	Fitur				
		F4	F2	F3	F5	F1
Resorcinol	38,36	-	✓	✓	✓	-
Phloroglucinol	38,35	-	✓	✓	✓	-
Pyrogallol	38,33	-	✓	✓	✓	-
Pyrocatechol	37,88	✓	-	-	✓	✓
Butein	37,64	-	✓	✓	✓	-
Benzyl Salicylate	37,48	-	✓	✓	✓	-
Okanin	36,65	-	✓	✓	✓	-
7-Methoxycoumarin	36,16	✓	✓	✓	-	-
4-Hydroxybenzaldehyde	36,07	-	✓	✓	✓	-
4-Hydroxybenzoic Acid	35,98	-	✓	✓	✓	-

Keterangan: ✓ Terdapat Kesesuaian Fitur
- Tidak Ada

- Interaksi dengan Cincin Aromatik
- Interaksi Akseptor Ikatan Hidrogen
- Interaksi Donor Ikatan Hidrogen

Pada peringkat 1 ditempati oleh *Resorcinol* yang terdapat pada tanaman Daun Seribu (*Achillea millefolium*) dengan skor kecocokan farmakofor sebesar 38,36 dan kesesuaian fitur pada F2, F3 dan F5. Pada peringkat 2 ditempati oleh *Phloroglucinol* yang terdapat pada tanaman Bawang Merah (*Allium cepa* L.) dengan skor kecocokan farmakofor sebesar 38,35 dan kesesuaian fitur pada F2, F3 dan F5. Pada peringkat 3 ditempati oleh *Pyrogallol* yang terdapat pada tanaman Tampil Besi (*Phyllanthus reticulatus*) dengan skor kecocokan

farmakofor sebesar 38,33 dan kesesuaian fitur pada F2, F3 dan F5. Pada peringkat 4 ditempati oleh *Pyrocatechol* yang terdapat pada tanaman Teratai (*Nelumbium nelumbo* Druce) dengan skor kecocokan farmakofor sebesar 37,88 dan kesesuaian fitur pada F4, F5 dan F1. *Pyrocatechol* atau Katekol juga merupakan senyawa yang ditemukan pada jaringan tanaman seperti apel, anggur, dan buah pir (Pudjaatmaka, 2002).

Resorcinol, *Phloroglucinol*, *Pyrogallol* dan *Pyrocatechol* merupakan senyawa yang tergolong polifenol. Polifenol adalah senyawa fenolik yang memiliki lebih dari satu gugus hidroksil (OH), golongan senyawa ini terdapat pada berbagai jenis tumbuhan yang mempunyai aktivitas antioksidan (Febrida *et al.*, 2013).

Antioksidan dapat menangkal pembentukan radikal bebas selama proses oksidasi hipoxantin menjadi xantin, dan xantin menjadi asam urat oleh xantin oksidase karena karena kemampuannya mendonorkan atom hidrogen atau elektron. Radikal bebas yang terbentuk dari proses metabolisme purin oleh xantin oksidase yakni hidrogen peroksida (H_2O_2) dapat menyebabkan peningkatan aktivitas xantin oksidase yang juga akan meningkatkan produksi asam urat dalam tubuh (Afrianti *et al.*, 2010; Simanjuntak, 2012).

Uji penambatan *in silico* dan *in vitro* aktivitas inhibitor xantin oksidase dari senyawa-senyawa flavonoid dan polifenol komersial yang tersedia, yang dilakukan oleh Umamaheswari dan kawan-kawan (2011) menunjukkan potensi aktivitas *Resorcinol*, *Pyrogallol* dan *Pyrocatechol* sebagai inhibitor xantin oksidase dengan nilai IC_{50} sebesar 55 ± 0.46 , 36 ± 0.36 dan 58 ± 0.64 dengan Allopurinol sebagai pembanding yang memberikan nilai IC_{50} sebesar 29 ± 0.28 .

Uji *in silico* dan *in vitro* aktivitas biologi dari inhibitor potensial xantin oksidase, yang dilakukan oleh Umamaheswari dan kawan-kawan (2011) menunjukkan potensi aktivitas *Phloroglucinol* sebagai inhibitor xantin oksidase dengan nilai IC_{50} sebesar 58 ± 0.74 dengan Allopurinol sebagai pembanding yang memberikan nilai IC_{50} sebesar 29 ± 0.28 ,

Pada peringkat 5 ditempati oleh *Butein* dengan skor kecocokan farmakofor sebesar 37,64 dan kesesuaian fitur pada F2, F3 dan F5. *Butein* merupakan pigmen berwarna kuning yang banyak terdapat diberbagai macam bunga (Vermerris & Nicholson, 2006) dan tergolong senyawa kalkon yang terdapat pada tanaman Kembang Sepatu Sungsang (*Hibiscus schizopetalus* (Mast.) Hook. F.). Senyawa kalkon merupakan salah satu metabolit sekunder kelompok flavonoid yang juga mempunyai aktivitas biologis yang sangat bermanfaat, salah satunya sebagai antioksidan (Ahmed *et al.*, 2011).

Flavonoid diketahui merupakan metabolit sekunder yang berpotensi sebagai inhibitor enzim xantin oksidase dan memiliki kemiripan struktur dengan xantin (Murray *et al.*, 2006). Kemiripan struktur dengan xantin dikarenakan oleh adanya dua cincin aromatik yang memiliki gugus hidroksil sebagai donor atom hidrogen atau elektron (Surahman *et al.*, 2013). Dalam studi kinetik enzim, flavonoid menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap xantin oksidase melalui interaksi dengan enzim pada gugus fungsional dengan mekanisme inhibisi kompetitif (Umamaheswari *et al.*, 2013).

Pada peringkat 6 ditempati oleh *Benzyl Salicylate* dengan skor kecocokan farmakofor sebesar 37,48 dan kesesuaian fitur pada F2, F3 dan F5. *Benzyl Salicylate* tergolong minyak atsiri yakni minyak eteris yang mudah menguap, diperoleh dari tanaman Cempaka Putih (*Michelia alba* DC.) dengan cara penyulingan uap (Ketaren, 1985).

Pada peringkat 7 ditempati oleh *Okanin* dengan skor kecocokan farmakofor sebesar 36,65 dan kesesuaian fitur pada F2, F3 dan F5. *Okanin* tergolong senyawa kalkon seperti *Butein* dan juga terdapat pada tanaman Kembang Sepatu Sungsang (*Hibiscus schizopetalus* (Mast.) Hook. F.).

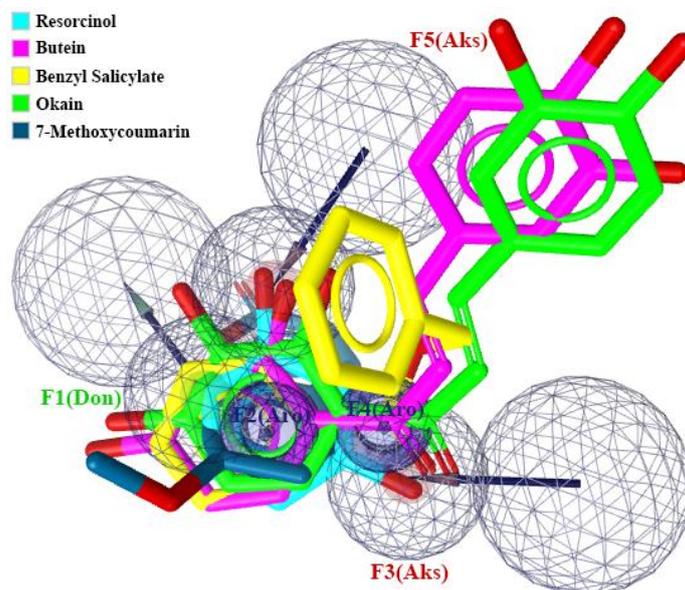
Pada peringkat 8 ditempati oleh *7-Methoxycoumarin* dengan skor kecocokan farmakofor sebesar 36,16 dan kesesuaian fitur pada F4, F2 dan F3. *7-Methoxycoumarin* atau Ayapanin (Bose, 1936) atau Umbelliferone Methyl Ether atau Herniarin (Murray *et al.*, 1982) termasuk dalam kategori kumarin sederhana yang tergolong minyak atsiri yang terdapat pada tanaman Prasman (*Eupatorium triplinerve* Vahl.).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Lin dan kawan-kawan (2008) mengenai hubungan struktur aktivitas turunan kumarin sebagai penghambat xanthine oxidase dan aktivitas penangkal radikal bebas, menunjukkan kumarin memiliki aktivitas antioksidan dan potensi sebagai inhibitor kompetitif xantin oksidase. Aktivitas antioksidan yang dihasilkan oleh turunan kumarin dipengaruhi oleh adanya gugus hidroksil (OH) pada struktur cincin kumarin. Turunan kumarin dengan 1 gugus hidroksil atau tidak memiliki gugus hidroksil dalam struktur kimianya seperti turunan metoksi memiliki aktivitas antioksidan yang lebih rendah dibandingkan turunan kumarin dengan 2 gugus hidroksil. Hal ini menunjukkan korelasi efek penangkal radikal bebas kumarin dengan jumlah gugus hidroksil. Turunan kumarin juga menunjukkan interaksi dengan *molybdopterin* pada situs aktif xantin oksidase. Gugus karbonil dan atom O ester pada turunan kumarin menunjukkan interaksi dengan asam-asam amino xantin oksidase. Turunan kumarin dengan 2 gugus OH pada cincin benzennya menunjukkan afinitas tertinggi terhadap tempat pengikatan xantin oksidase. Hasil penilaian efek gabungan sebagai penghambat xantin oksidase dan penangkal radikal bebas kumarin menunjukkan nilai % inhibisi sebesar 10.88 ± 0.81 dengan pembanding Allopurinol menunjukkan nilai % inhibisi sebesar 46.16 ± 2.83 .

Pada peringkat 9 dan 10 ditempati oleh *4-Hydroxybenzaldehyde* dan *4-Hydroxybenzoic Acid* dengan skor kecocokan farmakofor sebesar 36,07 dan 35,98. *4-Hydroxybenzaldehyde* dan *4-Hydroxybenzoic Acid* tergolong senyawa fenolik karena memiliki lebih dari 1 gugus hidroksil yang menempel di cincin aromatiknya (Vermerris & Nicholson, 2006). Pada basis data tanaman obat Indonesia *4-Hydroxybenzaldehyde* dengan kesesuaian fitur pada F2, F3 dan F5, terdapat pada tanaman Kembang Cokelat (*Zephyranthes candida* Herb.). *4-Hydroxybenzoic Acid* dengan kesesuaian fitur pada F2, F3 dan F5, terdapat pada tanaman Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.).

Pada uji aktivitas antioksidan secara *in vitro* dan inhibitor xantin oksidase secara *in vivo* *Pandanus amaryllifolius* Roxb. pada tikus yang diinduksi kalium oksonat yang dilakukan oleh Shukor dan kawan-kawan (2018) menunjukkan ekstrak air daun pandan memiliki kandungan fenol dan flavonoid yang dapat menghambat xantin oksidase dan memiliki aktivitas antioksidan. Ekstrak air daun pandan (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) menunjukkan aktivitas hipourisemia yang signifikan untuk dosis tinggi (1000 mg/kg) dan rendah (500 mg/kg). Pada tikus hiperurisemia akibat induksi kalium oksonat dengan berat badan 1000 mg/kg, menunjukkan penurunan asam urat serum yang signifikan sebesar 85% dan aktivitas penghambatan xantin oksidase sebesar 64%, dibandingkan dengan tikus hiperurikemia.

Sepuluh *hits* selanjutnya dilakukan penjajaran pada model farmakofor hipoxantin. Penjajaran ini bertujuan untuk analisa fitur-fitur farmakofor yang paling banyak dipenuhi oleh *hits*.



Gambar 6. Penjajaran Beberapa *Hits* Pada Model Farmakofor Hipoxantin

Hasil penjajaran dan kesesuaian fitur menunjukkan F2, F3 dan F5 merupakan fitur yang paling banyak dipenuhi oleh *hits*. F2 yang merupakan interaksi aromatik dengan cincin (Aro) dipenuhi oleh 9 *hits*. F3 dan F5 yang merupakan dua interaksi akseptor ikatan hidrogen (Aks) masing-masing juga dipenuhi oleh 9 *hits*. Meskipun, F4 yang juga merupakan interaksi aromatik dengan cincin (Aro) dan F1 yang merupakan donor ikatan hidrogen hanya dipenuhi oleh 2 dan 1 *Hits*, tetap dapat disimpulkan fitur-fitur farmakofor hipoxantin dalam penelitian ini berperan sebagai penyaring dalam penapisan maya berdasarkan farmakofor. Selain dikarenakan F4, F2, F3, F5 dan F1 merupakan gugus-gugus fungsional pada hipoxantin yang dapat berinteraksi dengan xantin oksidase dengan dijumpai oleh beberapa asam amino disekitarnya, fitur-fitur farmakofor tersebut juga dapat dipenuhi oleh beberapa metabolit sekunder dari basis data tanaman obat Indonesia. Maka F4, F2, F3, F5 dan F1 merupakan fitur utama farmakofor hipoxantin yang dapat digunakan dalam pencarian inhibitor xantin oksidase baru secara penapisan maya berdasarkan farmakofor.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa terdapat 10 metabolit sekunder tanaman obat Indonesia sebagai kandidat inhibitor xantin oksidase secara *in silico*. Sepuluh metabolit sekunder yang dinyatakan sebagai *hits* secara berturut-turut diantaranya *Resorcinol*, *Phloroglucinol*, *Pyrogallol*, *Pyrocatechol*, *Butein*, *Benzyl Salicylate*, *Okanin*, *7-Methoxycoumarin*, *4-Hydroxybenzaldehyde* dan *4-Hydroxybenzoic Acid*.

DAFTAR PUSTAKA

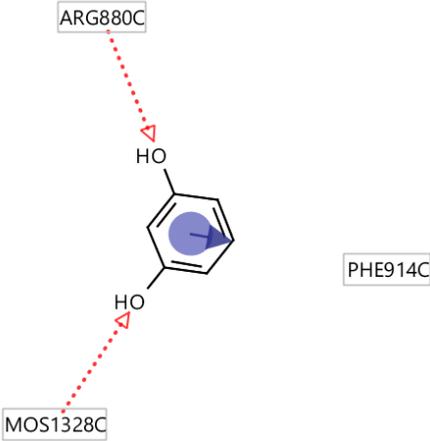
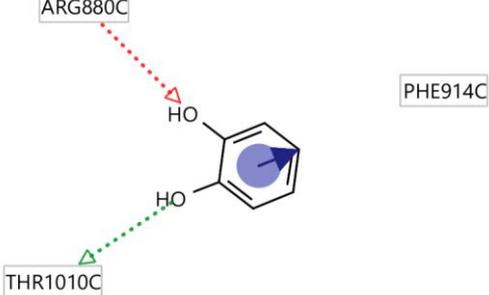
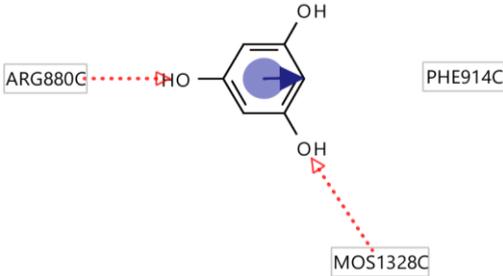
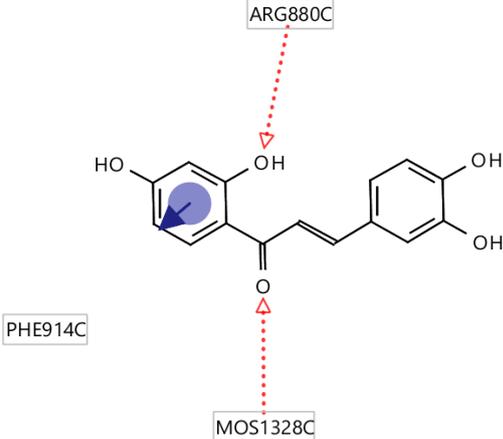
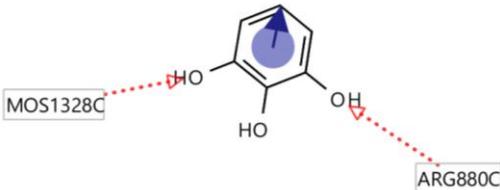
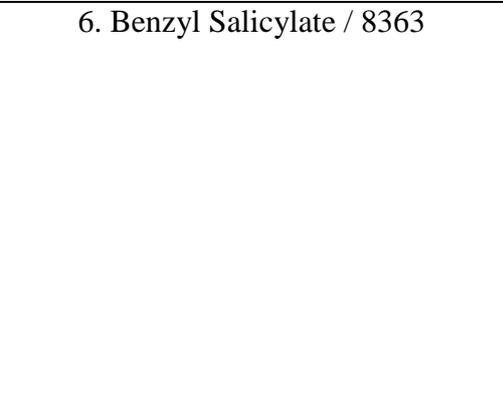
- Afrianti, L. H., Sukandar, E. Y., Ibrahim, S. Dan Adnyana, I. K. 2010. Senyawa Asam 2-Metilester-1-H-Pirol-4-Karboksilat dalam Ekstrak Etil Asetat Buah Salak Varietas Bongkok sebagai Antioksidan dan Antihiperurisemia. *J.Tekmol dan Industri Pangan*. 21(1): 66-72.
- Agromedia Redaksi. 2008. *Buku Pintar Tanaman Obat*. Agromedia Pustaka. Jakarta.
- Ahmed, R. M., Sastry, G. V., Bano, N., Ravichandra, S., and Raghavendra, M. 2011. Synthesis and Cytotoxic, Antioxidant Activities of New Chalcone Derivatives. *Rasayan Journal Chem*. 4(2): 289-294.
- Aspan, R.. 2008. *Taksonomi Koleksi Tanaman Obat Kebun Tanaman Obat Citeureup*. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. Jakarta.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 2013. Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS). Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. <http://www.depkes.go.id/resources/download/general/Hasil%20Risikesdas%202013.pdf>. Diakses pada 6 Agustus 2017 Pukul 14:27 WIB.
- Bose, P. K. & Roy, A. C. 1936. The Constitution of Ayapanin. *J. Indian Chem. Soc.* 13: 586–587.
- Brink, T. T., & Exner, T. E. 2010. pKa Based Protonation States and Microspecies for Protein-Ligand Docking. *J. Comput. Aided Mol. Des.* 49: 1535-1546.
- Burkert, U. & Allinger, N. L. 1982. *Molecular Mechanics*. American Chemical Society. Washington DC.
- Cao, H., Pauff, J. M. & Hille, R. 2010. Substrate Orientation and Catalytic Specificity in the Action of Xanthine Oxidase. *The Journal of Biological Chemistry*. 285 (36): 28044–28053.
- Chem Viz. 2000. *An Introduction to Geometry Optimization*. The Shodor Education Foundation, Inc. Durham.
- Chen, I-Jen & Nicolas, F. 2011. Is Conformational Sampling of Drug-like Molecules a Solved Problem?. *Drug Development Research*. 72: 85–94.
- Dalimartha Setiawan. 1999. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 1*. Pustaka Bunda. Jakarta.
- Dalimartha Setiawan. 2000. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 2*. Pustaka Bunda. Jakarta.
- Dalimartha Setiawan. 2003. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 3*. Pustaka Bunda. Jakarta.
- Dalimartha Setiawan. 2006. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 4*. Pustaka Bunda. Jakarta.
- Dalimartha Setiawan. 2008. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 5*. Pustaka Bunda. Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 2008. *Farmakope Herbal Indonesia*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Dipiro, J., Talbert, L., Yee, C., Matzke, R., Wells, G., & Posey, L. 2008. *Pharmacotherapy, Seventh edition*. New York: McGraw-Hill Companies, Inc.
- Febrinda, A. E., Astawan, M., Wresdiyati, T. & Yuliana, N. D. 2013. Kapasitas Antioksidan dan Inhibitor Alfa Glukosidase Ekstrak Umbi Bawang Dayak. *J. Tekmol dan Industri Pangan*. 24(2): 162-167.
- Gastreich, M., Christian L., Hans B. & Matthias R. 2005. *Virtual Screening in Drug Discovery*. CRC Press. Florida.
- Gelbin, A., Schneider, B., Clowney, L., Hsieh, S. H., Olson, W. K. & Berman, H. M. 1996. Geometric Parameters in Nucleic Acids: Sugar and Phosphate Constituents. *J. Am. Chem. Soc.* 118: 519-529.
- Haidari, F., Keshavarz, S. A., Rashidi, M. R. & Shahi, M. M., 2009. Orange Juice and Hesperetin Supplementation to Hyperuricemic Rats Alter Oxidative Stress Markers and Xanthine Oxidoreductase Activity. *J. Clin. Biochem. Nutr.* 45 (3): 285-291.
- Hariana, A. 2013. *262 Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Penebar Swadaya. Jakarta.

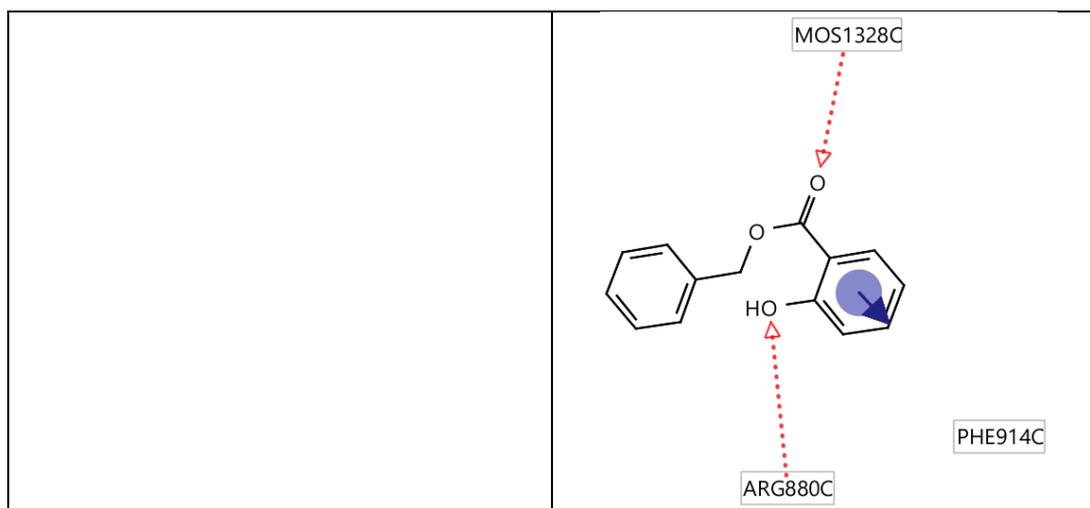
- Hodgman, T. C., French, A. & Westhead, D. R. 2010. *Bioinformatics 2nd ed.* Taylor & Francis Group. United Kingdom.
- Huang, N., B. K. Shoichet & J. J. Irwin. 2006. Benchmarking Sets for Molecular Docking. *J. Med. Chem.* 49(23): 6789–6801.
- Kelompok Masyarakat Desa Sirnasari. 2008. *Tumbuhan Obat Halimun.* Yayasan Peduli Konservasi Alam Indonesia. Sukabumi.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. 2017. *Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2016.* Pusat Data dan Informasi Jakarta.
- Ketaren, S. 1985. *Pengantar Teknologi Minyak Atsiri.* Penerbit Balai Pustaka. Jakarta.
- Kouranov, A., Xie, L., Cruz-la, J. D., Chen, L. & Westbrook, J. 2006. The RSCBPDB Information Portal for Structural Genomic. *Nucleic Acid Research.* 34: 302-305.
- Lin, H. C., Tsai, S. H., Chen, C. S., Chang, Y. C., Lee, C. M., Lai, Z. Y. dan Lin, C. M. 2008. Structure–Activity Relationship of Coumarin Derivatives on Xanthine Oxidase-Inhibiting and Free Radical-Scavenging Activities. *Biochemical Pharmacology* 75. 1416–1425.
- Lipinski, C.A. *et al.* 2001. Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery and Development Settings. *Advanced Drug Delivery Reviews.* 46 (1-3): 3-26.
- Lipinski, C. A. 2004. Drug Discovery Today: *Technologie.* 1(4): 337-341.
- Martoharsono, S. 1984. *Biokimia.* Jilid I. Yogyakarta. UGM Press.
- Mas Jaya Putra, A. 2010. Pharmacophore Modeling of GPCR and CYP2D6 Ligands. Vrije Universiteit. Netherlands.
- Misnadiarly, A. S. 2008. *Mengenal Penyakit Arthritis.* <http://perpustakaan.depkes.go.id:8180/bitstream/123456789/603/23/y%20>. Diakses pada 10 Mei 2017 Pukul 10:49 WIB.
- Murray, R. D. H., Mendez, J. & Brown, S. A. 1982. *The Natural Coumarins.* Wiley Interscience. New York. pp 1–702.
- Murray, R. K., Granner, D. K. & Rodwell, V. W. 2006. *Biokimia Harper.* Terjemahan dari Harper's Illustrated Biochemistry 27th ed oleh Brahm Udan Nanda Wulandari. Penerbit Buku Kedokteran ECG. Jakarta. 65-77.
- Oprea. T. I., Bologa, C. & Olah, M. 2005. *Virtual Screening in Drug Discovery.* CRC Press. Florida.
- Perola, E., Walters, W. P. & Charifson, P. S. 2005. In J. Alvarez, & B. Shoichet: *Virtual Screening in Drug Discovery* (p. 5). Taylor & Francis Group. Boca Raton.
- Priyanto. 2008. *Farmakologi dan Terminologi Medis.* Lembaga Studi dan Konsultasi Farmakologi. Jakarta.
- Pudjaatmaka, A. H. 2002. *Kamus Kimia.* Balai Pustaka. Jakarta.
- Rapp, C. S., C. Schonbrun, M. P. Jacobson, C. Kalyanaraman, & N. Huang. 2009. Automated Site Preparation in Physics-based Rescoring of Receptor Ligand Complexes. *Proteins.* 77(1): 52–61.
- Setyoningsih, R. 2009. Faktor-Faktor yang Berhubungan dengan Kejadian Hiperurisemia pada Pasien Rawat Jalan RSUPDr.Kariadi Semarang. *Skripsi.* Universitas Diponegoro. Semarang.
- Shukor, N. A. A., Ablat, A., Muhamad, N. A. & Mohamad, J. 20018. In Vitro Antioxidant and In Vivo Xanthine Oxidase Inhibitory Activities of *Pandanus amaryllifolius* in Potassium Oxonate-Induced Hyperuricemic Rats. *International Journal of Food Science and Technology.*
- Sigma-Aldrich. 2017. *About Us.* Merck KGaA. United States.
- Simanjuntak, K. 2012. Peran Antioksidan Flavonoid dalam Meningkatkan Kesehatan. *Bina Widya.* 23(3): 135-140.

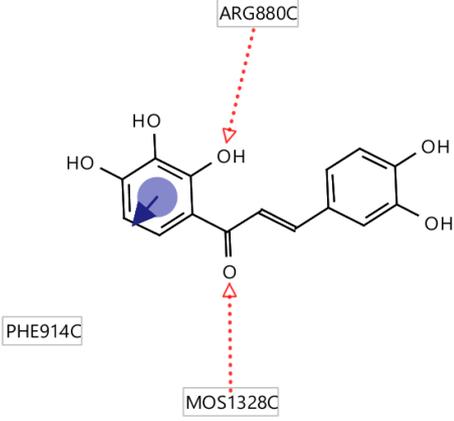
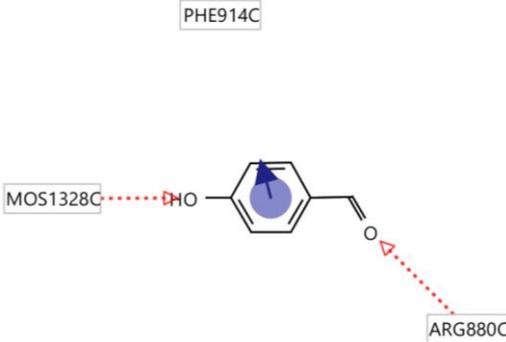
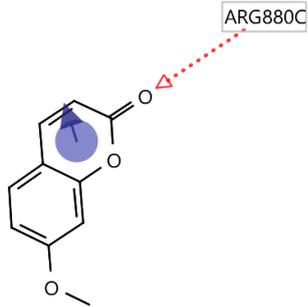
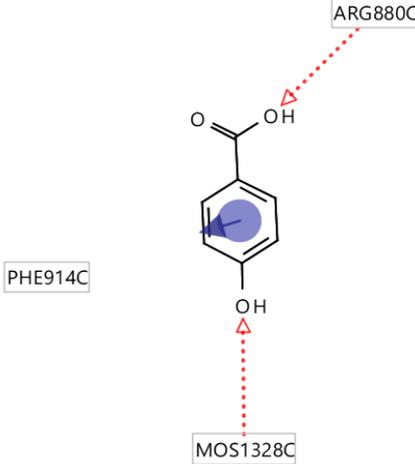
- Sotriffer Christoph., R. Mannhold., H. Kubinyi., & G. Folkers. 2011. *Virtual Screening: Principles, Challenges, and Practical Guidelines*. Wiley-VCH Verlag & Co. KgaA. Germany.
- Surahman, A., Subandi & Muntholib. 2013. Uji Fitokimia dan Daya Inhibisi Ekstrak Daun Sendok (*Plantago major*) dan Buah Srikaya (*Annona squamosa* L.) Terhadap Aktivitas Xantin Oksidase. *Skripsi*. Universitas Negeri Malang. Malang.
- Syahdi, R. R. 2011. Penapisan Virtual Basis Data Senyawa Tanaman Obat Di Indonesia Sebagai Inhibitor Enzim-enzim HIV-1. *Tesis*. Universitas Indonesia. Depok.
- Tennant, R. 2007. *Bioinformatics For Dummies 2nd Edition*. Wiley Publishing, Inc. Indiana.
- Trubus. 2013. *100 Plus Herbal Indonesia*. Trubus Swadaya. Jakarta.
- Umamaheswari, M., Madeswaran, A. & Asokkumar, K. 2013. Virtual Screening Analysis and *In Vitro* Xanthine Oxidase Inhibitory Activity of Some Commercially Available Flavonoids. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*. 12(3); 317-323.
- Umamaheswari, M., Madeswaran, A., Asokkumar, K., Sivashanmugam, T., Subhadradevi, V. & Jagannath, P. 2011. Discovery of Potential Xanthine Oxidase Inhibitors Using *In Silico* Docking Studies. *Der Pharma Chemica*. 3(5): 240-247.
- Umamaheswari, M., Madeswaran, A., Asokkumar, K., Sivashanmugam, T., Subhadradevi, V. & Jagannath, P. 2011. *In Silico* Docking Studies and *In Vitro* Xanthine Oxidase Inhibitory Activity of Commercially Available Flavonoids and Polyphenolic Compounds. *Journal of Pharmacy Research*. 4(10); 3460-3462.
- Vermerris, W. & Nicholson, R. 2006. *Phenolic Compound Biochemistry*. Springer. Netherlands.
- Wang, Y., E. Bolton, & S. Dracheva. 2010. An Overview of the PubChem BioAssay Resource. *Nucleic Acids Res*. 38: D255–D266.
- Wolber, G., Dornhofer, A. A., & Langer, T. 2006. Efficient Overlay of Small Organic Molecules Using 3D Pharmacophores. *J. Comput Aided Mol*. 20(12): 773–788.
- Wolber, G. & Langer, T. 2005. LigandScout: 3-D Pharmacophores Derived from Protein-Bound Ligands and Their Use as Virtual Screening Filters. *J. Chem. Inf. Model*. 45(1): 160-169.
- Wolff, M. E. 1996. *Burgers Medicinal Chemistry and Drug Discovery 5th Edition Volume 1: Principles and Practice*. Wiley-Interscience. New York.
- Xie, X. Q. 2010. Exploiting PubChem for Virtual Screening. NIH Public Access.
- Yakar, R. 2013. Pharmacophore-Based Screening And Docking For The Discovery Of Novel Antagonists Of Beta-2Adrenergic Receptor. *Thesis*. Kadir Has University. Istambul.
- Yang, Guang-Fu. 2015. *Tripes Mol2 File Format*. The Yang Group. China.
- Zumdahl, S. S. 1986. *Chemistry*. Heath. Lexington.

Lampiran 1

Hasil Penapisan Maya Berdasarkan Farmakofor Metabolit Sekunder Tanaman Obat Indonesia Sebagai Kandidat Inhibitor Xantin Oksidase Secara *In Silico*

Nama Senyawa / CID dan Fitur yang Dipenuhi	Nama Senyawa / CID dan Fitur yang Dipenuhi
<p>1. Resorcinol / 5054</p> 	<p>4. Pyrocatechol / 289</p> 
<p>2. Phloroglucinol / 359</p> 	<p>5. Butein / 5281222</p> 
<p>3. Pyrogallol / 1057</p> 	<p>6. Benzyl Salicylate / 8363</p> 



Nama Senyawa / CID dan Fitur yang Dipenuhi	Nama Senyawa / CID dan Fitur yang Dipenuhi
<p data-bbox="384 315 655 349">7. Okanin / 5281294</p>  <p data-bbox="300 680 384 707">PHE914C</p> <p data-bbox="512 752 580 779">MOS1328C</p> <p data-bbox="512 365 596 392">ARG880C</p>	<p data-bbox="855 315 1278 349">9. 4-Hydroxybenzaldehyde / 126</p>  <p data-bbox="991 365 1075 392">PHE914C</p> <p data-bbox="815 551 916 577">MOS1328C</p> <p data-bbox="1238 680 1323 707">ARG880C</p>
<p data-bbox="320 853 719 887">8. 7-Methoxycoumarin / 10748</p>  <p data-bbox="352 898 437 925">PHE914C</p> <p data-bbox="600 954 684 981">ARG880C</p>	<p data-bbox="855 853 1278 887">10. 4-Hydroxybenzoic Acid / 135</p>  <p data-bbox="863 1178 948 1205">PHE914C</p> <p data-bbox="1190 909 1275 936">ARG880C</p> <p data-bbox="1046 1346 1131 1373">MOS1328C</p>