

ARTIKEL PENELITIAN

**PREDIKSI TOKSISITAS *IN SILICO* SENYAWA BIOAKTIF
DAUN KEMANGI (*OCIMUM SANCTUM L.*)**

*IN SILICO TOXICITY PREDICTION OF
BASIL LEAVES (*OCIMUM SANCTUM L.*)*

Ester Wangsasaputra^{1,*}, Satria Prihandini¹, Chrismis Novalinda Ginting², Linda Chiuman²

¹ Fakultas Kedokteran, Kedokteran Gigi dan Ilmu Kesehatan Universitas Prima Indonesia, Jl. Belanga No. 1, Simpang Ayahanda, Medan, Sumatera Utara 20118

² Program Studi Magister Sains Biomedik, Fakultas Kedokteran, Kedokteran Gigi dan Ilmu Kesehatan Universitas Prima Indonesia, Jl. Belanga No. 1, Simpang Ayahanda, Medan, Sumatera Utara 20118

* **Korespondensi:** ester.wangsaputra234@gmail.com

ABSTRACT

Introduction: *Ocimum sanctum L.* is commonly found and often used as a food ingredient in Indonesia. Flavonoid compounds are a group of chemical compounds found in *Ocimum sanctum L.* These compounds are known for their diverse biological activities, including antibacterial, antimicrobial, anti-inflammatory, antimalarial, and anticancer properties. In this study, we aimed to investigate the absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicity (ADMET) of flavonoid compounds in *Ocimum sanctum L.*

Methods: To achieve the research objective, the ADMET properties of flavonoid compounds in *Ocimum sanctum L.* were predicted using three web servers consisting of SwissADME, pkCSM, and ProTox-II. The observed parameters are divided into ADMET parameters.

Results: The results revealed that the flavonoid compounds in *Ocimum sanctum L.* have a median lethal dose (LD_{50}) range of 2000 mg/kg to 5600 mg/kg, classifying them into toxicity classes IV, V, and VI. Additionally, these flavonoid compounds showed immunotoxicity, cytotoxicity, and impact on the Mitochondrial Membrane Potential (MMP).

Conclusions: Our study demonstrates that the metabolic compounds derived from *Ocimum sanctum L.* are considered safe.

Key Words: *Ocimum sanctum*, flavonoids, toxicity prediction, metabolism, *in silico*

ABSTRAK

Pendahuluan: *Ocimum sanctum L.* (daun kemangi) banyak ditemukan dan sering digunakan sebagai bahan makanan di Indonesia. Senyawa flavonoid merupakan kelompok senyawa kimia yang banyak terkandung dalam *Ocimum sanctum L.* Senyawa ini dikenal dengan aktivitas biologisnya yang beragam, antara lain antibakteri, antimikroba, antiinflamasi, antimalaria, dan antikanker. Pada penelitian ini, kami bertujuan untuk menyelidiki penyerapan, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas (*the absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicity/ADMET*) senyawa flavonoid dalam *Ocimum sanctum L.*

Metode: Dalam mencapai tujuan penelitian, prediksi properti ADMET senyawa flavonoid pada *Ocimum sanctum L.* dilakukan menggunakan tiga web server yang terdiri dari SwissADME, pkCSM, dan ProTox-II. Parameter yang diamati dibagi menjadi parameter ADMET.

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa flavonoid dalam *Ocimum sanctum L.* memiliki median *lethal dose* (LD_{50}) yang berkisar antara 2000 mg/kg hingga 5600 mg/kg, dengan klasifikasi kelas toksisitas IV, V, dan VI. Selain itu, senyawa flavonoid ini menunjukkan imunotoksitas, sitotoksitas, dan dampak pada *Mitochondrial Membrane Potential* (MMP).

Simpulan: Penelitian kami menunjukkan bahwa senyawa metabolik yang berasal dari *Ocimum sanctum L.* dianggap aman.

Kata Kunci: *Ocimum sanctum*, flavonoid, prediksi toksisitas, metabolisme, *in silico*

PENDAHULUAN

Daun kemangi (*Ocimum sanctum L.*) merupakan anggota dari keluarga *Lamiaceae*

dan diketahui mengandung berbagai senyawa fitokimia dengan potensi efek farmakologis.^{1,2} Senyawa-senyawa ini meliputi karotenoid, ter-

penoid, alkaloid, saponin, flavonoid, tannin, dan minyak atsiri, yang berfungsi sebagai antioksidan dan menunjukkan sifat antibakteri.³ Daun kemangi diyakini bermanfaat dalam pengobatan gangguan pencernaan, bersifat renoprotektif, dan menjanjikan dalam berbagai bidang seperti antikarsinogenik, neuroprotektif, kardioprotektif, antikoagulan, imunomodulator, analgesik/antipiretik, hipolipidemik, antiinflamasi, antidiabetes, antistres, dan hepatoprotektif.³⁻⁶ Minyak atsiri yang diekstrak dari daun kemangi juga memiliki sifat fungistatik, insektisidal, dan nematisidal.⁷ Studi telah mengidentifikasi triterpenoid tetrasiklik sebagai senyawa bioaktif yang terisolasi.⁵ Selain itu, kandungan antioksidan dalam daun basil telah terbukti memberikan efek bermanfaat pada kondisi patologis seperti aterosklerosis, iskemia, kanker, katarak, dan gangguan fungsi hati.⁸

Ekstrak hidroalkohol dari daun *Ocimum sanctum* L. memiliki nilai terapeutik dan profilaksis dalam mengobati infark miokard.^{9,10} Penemuan dan pengembangan obat adalah proses yang menantang dan mahal, dengan sebagian besar obat yang potensial gagal mencapai pasar karena kurangnya efektivitas atau efek samping yang tidak dapat diterima. Dalam mengoptimalkan efikasi dan efisiensi terapeutik suatu senyawa, keamanan, sifat farmakokinetik, dan toksisitasnya harus dievaluasi. Interaksi farmakokinetik, toksisitas, dan potensi merupakan faktor penting dalam efikasi obat. Pengujian *in vitro* dan *in vivo* biasanya dilakukan untuk menyelidiki keamanan obat, termasuk berbagai toksisitas dan efek samping. Meskipun telah dilakukan upa-

ya untuk mengembangkan model *in vitro* seperti "*organ on a chip*," pendekatan semacam itu masih relatif mahal dan memakan waktu.^{11,12}

Saat ini, metode komputasi menawarkan banyak keuntungan dibandingkan dengan pendekatan eksperimental karena ramah lingkungan, cepat, biaya terjangkau, sangat akurat, dan dapat dilakukan sebelum senyawa disintesis.^{13,14} Prediksi Toksisitas *In silico* (PTI) adalah pendekatan komputasi untuk menganalisis, mensimulasikan, memvisualisasikan, dan memprediksi toksisitas zat kimia. Pendekatan ini mencakup semua metode untuk menganalisis sifat kimia dan biologis struktur kimia, baik yang mewakili zat kimia aktual maupun yang diusulkan (virtual). Pendekatan *in-silico* sering digunakan bersamaan dengan pengujian toksisitas lainnya dan secara bertahap mulai digunakan untuk mengevaluasi informasi toksisitas tanpa perlu studi *in vitro* atau *in vivo*. Toksikologi *in silico* (IST) menggunakan model berkode perangkat lunak untuk memprediksi potensi toksisitas zat kimia dan dalam beberapa kasus mengkuantifikasi dosis toksik. Model ini didasarkan pada data eksperimental, hubungan aktivitas-struktur, dan bukti ilmiah (misalnya struktur peringatan yang diterbitkan dalam literatur).¹⁵

Penilaian *absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicity* (ADMET) senyawa flavonoid *Ocimum sanctum* L. menggunakan *SwissADME*, *Pharmacokinetics-Computational ADMET Spectrum (pkCSM)*, dan *ProTox-II*. Penilaian ini menggunakan alat komputasi untuk memprediksi dan mengevaluasi berbagai sifat farmakokinetik dan toksi-

kologi dari senyawa-senyawa ini. Pendekatan *pK-CSM* digunakan untuk memprediksi karakteristik penyerapan, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas flavonoid. Alat ini memberikan informasi tentang parameter-parameter seperti kelarutan dalam air, penyerapan di saluran pencernaan, permeabilitas kulit, volume distribusi, metabolisme oleh enzim tertentu, dan potensi toksisitas. *SwissADME* mengevaluasi sifat farmakokinetik flavonoid, memberikan data tentang penyerapan di saluran pencernaan, permeabilitas sawar darah-otak (*blood brain barrier/BBB*), metabolisme oleh enzim-enzim tertentu, potensi sebagai substrat P-glikoprotein, dan permeabilitas kulit. *ProTox II* memprediksi berbagai akhiran toksikologi dan jalur toksisitas dari flavonoid. Alat ini memberikan informasi tentang kelas-kelas toksisitas berdasarkan nilai LD_{50} . Juga mengevaluasi potensi efek toksikologi seperti imunotoksitas, sitotoksitas, dan dampaknya pada MMP. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi *absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicity* (ADMET) senyawa flavonoid *Ocimum sanctum L.* menggunakan ketiga alat yang telah disebutkan.

METODE

Studi ini dilakukan menggunakan serangkaian laptop Asus X441BA dengan spesifikasi prosesor AMD A4-9125 RADEON R3, 4 COMPUTE CORE 2C + 2G, RAM 4 GB, dan *hard drive* 1 TB, serta perangkat lunak dan sistem operasi *Windows 10*. Perangkat lunak yang digunakan meliputi *PubChem*, *pK-CSM Tools*, *SwissAdME*, dan *Pro-Tox II*. Senyawa yang menjadi fokus penelitian adalah kelom-

pok flavonoid, yaitu *aphanamol II*; *aromadendrene*; *bulnesol*; α -*cadinene*; β -*cadinene*; γ -*cadinene*; δ -*cadinol*; α -*copaene*; *elemol*; β -*caryophyllene*; β -*elements*; γ -*elements*; α -*eudesmol*; β -*eudesmol*; γ -*eudesmol*; *germacrene*; *humulene oxide*; α -*humulene*; dan *ledene*.

Situs web PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) digunakan untuk mendapatkan *Canonical SMILES* dari masing-masing senyawa. Prediksi toksisitas senyawa dilakukan menggunakan *pK-CSM Tools* yang dapat diakses melalui <http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsml/prediction>. Prosesnya dimulai dengan memasukkan *Canonical SMILES* dari senyawa-senyawa yang diteliti dan kemudian menekan ADMET untuk mendapatkan hasil analisis penyerapan, termasuk kelarutan dalam air, permeabilitas $CaCO_2$, penyerapan usus, permeabilitas kulit, substrat P-glikoprotein, inhibitor P-glikoprotein I, inhibitor P-glikoprotein II, analisis distribusi (VD_{ss} , fraksi terikat, permeabilitas BBB, dan permeabilitas Sistem Saraf Pusat (SSP)), analisis metabolisme (substrat CYP2D6, substrat CYP3A4, inhibitor CYP1A2, inhibitor CYP2C19, inhibitor CYP2C9, inhibitor CYP2D6, dan inhibitor CYP3A4), analisis ekskresi (*Total Clearance*, substrat Renal OCT2), dan analisis toksisitas (toksisitas Ames, dosis maksimum yang dapat ditoleransi manusia, inhibitor hERG I, inhibitor hERG II, LD_{50} , LOAEL, hepatotoksitas, sensitivitas kulit, toksisitas *T. Pyriformis*, dan toksisitas *Minnow*).

Prediksi toksisitas senyawa dilakukan dengan menggunakan *SwissADME* yang dapat diakses melalui <http://www.swissadme.ch/>.

Prosesnya diawali dengan memasukkan *Canonical SMILES* dari senyawa-senyawa tersebut dan kemudian memilih *Run* untuk mendapatkan hasil analisis penyerapan (penyerapan gastrointestinal (GI), substrat P-GP, Log Kp), analisis distribusi (permeabilitas BBB), dan analisis metabolisme (inhibitor CYP1A2, inhibitor CYP2C19, inhibitor CYP2C9, inhibitor CYP2D6, dan inhibitor CYP3A4).

Prediksi toksisitas senyawa dilakukan menggunakan *Pro-Tox II*, yang dapat diakses melalui https://tox-new.charite.de/prottox_II/. Prosesnya dengan mengklik *Tox Prediction*, memasukkan *Canonical SMILES* dari senyawa-senyawa tersebut, memilih semua parameter toksisitas, dan kemudian memulai *Tox Prediction* untuk mendapatkan hasil analisis toksisitas senyawa, termasuk LD₅₀, hepatotoksitas, karsinogenisitas, imunotoksitas, mutagenisitas, sitotoksitas, AhR, AR, AR-LBD, Aromatase, ER, ER-LBD, PPAR-Gamma, nrf2/ARE, HSE, MMP, penekan tumor Phosphoprotein, dan ATAD 5.

HASIL

Hasil prediksi toksisitas senyawa dengan PK-CSM disajikan pada Tabel 1. Hasil menunjukkan bahwa seluruh senyawa *sesquiterpene* dalam *Ocimum sanctum L*. (20 senyawa) memiliki kelarutan air yang rendah, berkisar dari -3,67 log mol/L hingga -6,50 log mol/L. Prediksi permeabilitas CaCO₂ menunjukkan bahwa semua senyawa memiliki permeabilitas tinggi, berkisar dari 1,37 hingga 1,62. Prediksi penyerapan GI juga menunjukkan bahwa semua senyawa memiliki pe-

nyerapan tinggi (92,23% hingga 97,15%). Terdapat 18 senyawa yang memiliki permeabilitas rendah pada kulit (-1,27 log Kp hingga -2,22 log Kp), sedangkan 2 senyawa lainnya, yaitu APH memiliki log Kp -2,69 <-2,5, dan HMO memiliki log Kp -2,97 <-2,5.

Sembilan belas senyawa diidentifikasi sebagai inhibitor dan substrat P-glikoprotein, yang menunjukkan independensi pada jalur P-glikoprotein. Tujuh belas senyawa memiliki VD_{ss} <0,71 (distribusi rendah), dan 3 senyawa lainnya memiliki distribusi yang lebih baik (ARO=VD_{ss} 0,75; α -COP=VD_{ss} 0,81; and LDN=VD_{ss} 0,75). Hasil fraksi tak terikat (Fu) yang dianalisis berkisar dari 0,12-0,41, terendah adalah α -COP, dan tertinggi adalah HMO. Tabel 1 menunjukkan bahwa semua senyawa memiliki nilai log BB >0,3 kecuali APH. Sepuluh senyawa memiliki nilai logPS > -2 (ARO, α -CAD, β -CAD, γ -CAD, δ -CAD, α -COP, β -ELM, γ -ELM, α -EUS, dan LDN). Senyawa lainnya memiliki nilai logPS berkisar dari -2,1 hingga -2,92. Sebelas senyawa (α -CAD, β -CAD, γ -CAD, δ -CAD, α -CDL, β -CAR, ELE, β -ELM, GMC, α -HUM, dan HMO) tidak mengalami metabolisme oleh sitokrom P450. Dalam penelitian ini, nilai *clearance* total diperoleh antara 0,25-1,44. Tidak ada senyawa yang berpotensi sebagai inhibitor hERG I dan hERG II. Nilai LD₅₀ berkisar dari 1,51 mol/kg hingga 1,92 mol/kg, dan nilai LOAEL berkisar dari 1,13-2,06. Hasil uji pada parameter hepatotoksitas menunjukkan bahwa semua senyawa tidak berpotensi beracun. Dalam uji sensitivitas kulit, 17 senyawa menunjukkan potensi alergi kulit, sementara tiga senyawa lainnya (ARO, α -COP, dan LDN) memiliki risi-

Tabel 1. Toksisitas Senyawa PK-CSM

Parameter	APH	ARO	BUL	α-CAD	β-CAD	γ-CAD	δ-CAD	α-CDL	β-CAR	α-COP	ELE	β-ELM	γ-ELM	α-EUS	β-EUS	γ-EUS
Absorpsi																
Keluturan air	-3,68	-5,76	-4,41	-5,92	-5,81	-6,23	-5,92	-4,07	-5,56	-5,71	-4,65	-6,43	-6,50	-4,42	-4,9	-4,52
Permeabilitas CaCO2	1,62	1,40	1,50	1,41	1,43	1,43	1,42	1,48	1,42	1,37	1,52	1,41	1,41	1,50	1,51	1,50
Absorpsi Intestinal	94,65	95,30	92,78	94,64	97,15	96,48	96,13	94,30	94,85	96,22	93,49	94,36	93,38	93,02	94,30	92,23
Permeabilitas kulit	-2,69	-1,82	-1,87	-1,44	-1,48	-1,56	-1,46	-1,92	-1,58	-2,23	-1,58	-1,28	-1,33	-1,87	-1,97	-1,85
Substrat P-glikoprotein	Tidak															
Penghambat P-glikoprotein I	Tidak															
Inhibitor P-glikoprotein II	Tidak															
Distribusi																
VDss	0,28	0,75	0,48	0,68	0,69	0,67	0,69	0,42	0,65	0,81	0,41	0,60	0,57	0,49	0,46	0,49
Fraksi tidak terikat	0,27	0,17	0,27	0,20	0,20	0,13	0,20	0,28	0,26	0,12	0,25	0,16	0,15	0,28	0,16	0,27
Permeabilitas SDO	0,07	0,82	0,60	0,79	0,79	0,81	0,77	0,60	0,73	0,89	0,63	0,81	0,78	0,59	0,63	0,58
Permeabilitas SSP	-2,10	-1,77	-2,31	-1,90	-1,96	-1,63	-1,95	-2,15	-2,17	-1,66	-2,15	-1,71	-1,64	-2,31	-1,86	-2,30
Metabolisme																
Substrat CYP2D6	Tidak															
Substrat CYP3A4	Ya	Ya	Tidak	Ya	Tidak	Tidak	Ya	Tidak	Ya	Tidak						
Penghambat CYP1A2	Tidak	Ya	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak								
Penghambat CYP2C19	Tidak	Tidak	Ya	Tidak	Ya	Tidak	Ya	Tidak								
Penghambat CYP2C9	Tidak	Ya	Tidak													
Penghambat CYP2D6	Tidak															
Penghambat CYP3A4	Tidak															
Ekskresi																
Klirens total	1,21	0,93	1,07	1,18	1,18	1,19	1,18	1,09	1,09	0,95	1,31	0,25	1,41	1,03	1,03	1,03
Substrat OCT2 renal	Tidak															
Toksisitas																
Toksisitas Ames	Tidak															
Dosis toleransi maksimal	0,02	-0,15	0,21	0,13	0,36	0,05	0,21	0,34	0,35	-0,30	0,28	0,06	-0,08	0,13	-0,22	0,06
Penghambat hERG I	Tidak															
Penghambat hERG I	Tidak															
LD50	1,76	1,53	1,70	1,53	1,59	1,54	1,55	1,92	1,62	1,64	1,69	1,54	1,51	1,68	1,73	1,68
LOAEL	2,06	1,33	1,23	1,38	1,45	1,47	1,45	1,48	1,42	1,36	1,23	1,31	1,34	1,23	1,30	1,25
Hepatoksisitas	Tidak															
Sensitivitas Kulit	Ya	Tidak	Ya	Tidak	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya						
Toksisitas Piriformis	1,06	1,43	1,52	1,62	1,61	1,73	1,61	1,49	1,40	1,12	1,92	1,90	1,77	1,52	1,81	1,52
Toksisitas Min Tidakw	0,89	0,43	0,85	0,37	0,04	-0,02	0,09	0,74	0,50	0,13	0,54	0,12	0,22	0,82	0,41	0,84
Lipinski																
BM	236,36	204,36	22,372	204,36	204,36	204,36	204,36	222,37	204,36	204,36	222,37	204,36	204,36	222,37	222,37	222,37
Log P	2,96	4,27	3,92	4,58	4,58	4,58	4,73	3,78	4,73	4,27	3,94	4,75	4,89	3,92	3,92	4,07
HBD	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1
HBA	2	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1

ko lebih rendah dalam menyebabkan alergi. Nilai toksisitas *T. Pyriformis* diperoleh dari 1,05 hingga 1,92. Delapan belas senyawa memenuhi hukum Lipinski, dan dua senyawa memiliki nilai log P lebih besar dari +5 (GMC dan β -HUM dengan nilai log P= 5,04).

Hasil prediksi toksisitas senyawa dengan SwissADME ditampilkan pada Tabel 2. Delapan memiliki penyerapan GI tinggi, yaitu senyawa APH, BUL, α -CDL, ELE, α -EUS, β -EUS, γ -EUS, and HMO, sementara 12 senyawa lainnya memiliki penyerapan GI yang rendah. Pada analisis, tidak ada senyawa yang ditemukan sebagai substrat P-glikoprotein. Dalam memprediksi permeabilitas kulit, nilai berkisar dari -3,21 cm/s hingga -5,61 cm/s, dimana semakin negative log Kp maka senyawa makin tidak permeabel. Pada parameter distribusi BBB, 10 senyawa menunjukkan sifat yang permeabel. Dalam prediksi metabolisme senyawa, parameter meliputi inhibitor CYP1A2, inhibitor CYP2C19, inhibitor CYP2C9, inhibitor CYP2D6, dan inhibitor CYP3A4. Senyawa APH, BUL, α -EUS, dan γ -EUS tidak mengalami metabolisme oleh enzim-enzim tersebut. Pada senyawa ARO, α -COP mengalami metabolisme oleh inhibitor CYP1A2, inhibitor CYP2C19, dan inhibitor CYP2C9 serta tidak mengalami metabolisme oleh inhibitor CYP2D6 dan inhibitor CYP3A4. Sementara itu, senyawa α -CAD, β -CAD, γ -CAD, δ -CAD, β -CAR, β -ELM, γ -ELM, dan LDN tidak mengalami metabolisme oleh inhibitor CYP1A2, inhibitor CYP2D6, dan inhibitor CYP3A4 tetapi mengalami metabolisme oleh inhibitor CYP2C19 dan inhibitor CYP2C9.

Tabel 2. Toksisitas Senyawa SwissADME

Parameter	APH	ARO	BUL	α -CAD	β -CAD	γ -CAD	δ -CAD	α -CDL	β -CAR	α -COP	ELE	β -ELM	γ -ELM	α -EUS	β -EUS	γ -EUS	GMC	α -HUM	HMO	LDN
Absorpsi																				
Absorpsi GI	Tinggi	Rendah	Tinggi	Rendah	Rendah	Rendah	Rendah	Tinggi	Rendah	Rendah	Tinggi	Rendah	Rendah	Tinggi	Tinggi	Tinggi	Rendah	Rendah	Tinggi	Rendah
Substrat P-gp	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Log Kp (skin permeation)	-5,61	-4,20	-5,59	-4,71	-4,49	-4,49	-4,85	-5,29	-4,44	-4,37	-4,53	-3,21	-3,75	-5,17	-5,00	-5,25	-3,38	-4,32	-4,87	-4,69
Distribusi	Ya	Ya	Ya	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Ya	Tidak	Ya	Ya	Tidak	Tidak	Ya	Ya	Ya	Tidak	Tidak	Ya	Tidak
Metabolisme																				
BBB permeant	Ya	Ya	Ya	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Ya	Tidak	Ya	Ya	Tidak	Tidak	Ya	Ya	Ya	Tidak	Tidak	Ya	Tidak
Penghambat CYP1A2	Tidak	Ya	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Ya	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Penghambat CYP2C19	Tidak	Ya	Tidak	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya	Tidak	Ya	Ya	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Ya
Penghambat CYP2C9	Tidak	Ya	Tidak	Ya	Ya	Ya	Ya	Tidak	Ya	Ya	Tidak	Ya	Ya	Tidak	Ya	Tidak	Ya	Ya	Ya	Ya
Penghambat CYP2D6	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Penghambat CYP3A4	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Lipinski																				
BM	236,35	204,35	222,37	204,35	204,35	204,35	204,35	222,37	204,35	204,35	222,37	204,35	204,35	222,37	222,37	222,37	204,35	220,35	204,35	204,35
Log P	2,95	4,27	3,92	4,58	4,58	4,58	4,73	3,78	4,73	4,27	3,94	4,75	4,89	3,92	3,92	4,06	5,04	5,04	4,25	4,42
HBD	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0
HBA	2	0	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0	0	1	0

Tabel 3. Toksisitas Senyawa Pro-Tox II

Parameter Farmakologi	APH	ARO	BUL	α -CAD	β -CAD	γ -CAD	δ -CAD	α -CDL	β -CAR	α -COP
Toksisitas										
LD ₅₀	5000	5000	5600	4400	4400	4400	4390	2830	5300	3700
a. Toksisitas organ										
Hepatotoksisitas	Inaktif (0,54)	Inaktif (0,81)	Inaktif (0,71)	Inaktif (0,83)	Inaktif (0,87)	Inaktif (0,84)	Inaktif (0,82)	Inaktif (0,82)	Inaktif (0,80)	Inaktif (0,85)
b. Titik akhir toksisitas										
KarsiTidakgenisitas	Inaktif (0,57)	Inaktif (0,65)	Inaktif (0,63)	Inaktif (0,80)	Inaktif (0,69)	Inaktif (0,76)	Inaktif (0,75)	Inaktif (0,66)	Inaktif (0,70)	Inaktif (0,77)
ImuTidaktoksisitas	Active (0,64)	Inaktif (0,86)	Inaktif (0,95)	Inaktif (0,68)	Inaktif (0,95)	Active (0,55)	Inaktif (0,66)	Active (0,69)	Active (0,54)	Inaktif (0,68)
Mutagenisitas	Inaktif (0,68)	Inaktif (0,76)	Inaktif (0,87)	Inaktif (0,60)	Inaktif (0,89)	Inaktif (0,69)	Inaktif (0,68)	Inaktif (0,91)	Inaktif (0,95)	Inaktif (0,88)
Sitotoksisitas	Inaktif (0,95)	Inaktif (0,69)	Inaktif (0,67)	Inaktif (0,76)	Inaktif (0,76)	Inaktif (0,74)	Inaktif (0,69)	Inaktif (0,87)	Inaktif (0,75)	Inaktif (0,69)
c. Jalur pensinyalan reseptor nuklir Tox21										
Reseptor Aryl hidrocarbon(AhR)	Inaktif (0,98)	Inaktif (0,99)	Inaktif (0,98)	Inaktif (0,89)	Inaktif (0,94)	Inaktif (0,91)	Inaktif (0,88)	Inaktif (0,98)	Inaktif (0,99)	Inaktif (0,95)
Reseptor Androgen (AR)	Inaktif (0,85)	Inaktif (0,99)	Inaktif (0,95)	Inaktif (0,99)	Inaktif (0,99)	Inaktif (0,99)	Inaktif (0,99)	Inaktif (0,87)	Inaktif (1,0)	Inaktif (0,99)
Domain Pengikatan Ligan Reseptor Androgen (AR-LBD)	Inaktif (0,80)	Inaktif (0,98)	Inaktif (0,95)	Inaktif (0,97)	Inaktif (0,99)	Inaktif (0,99)	Inaktif (0,99)	Inaktif (0,96)	Inaktif (0,99)	Inaktif (0,99)
Aromatase	Inaktif (0,95)	Inaktif (0,94)	Inaktif (0,91)	Inaktif (0,72)	Inaktif (0,77)	Inaktif (0,67)	Active (0,53)	Inaktif (0,92)	Inaktif (0,93)	Inaktif (0,60)
Reseptor Estrogen Alpha (ER)	Inaktif (0,84)	Inaktif (0,99)	Inaktif (0,93)	Inaktif (0,83)	Inaktif (0,86)	Inaktif (0,83)	Inaktif (0,77)	Inaktif (0,80)	Inaktif (0,98)	Inaktif (0,96)
Domain Pengikatan Ligan Reseptor Estrogen (ER-LBD)	Inaktif (0,90)	Inaktif (0,99)	Inaktif (0,97)	Inaktif (0,94)	Inaktif (0,96)	Inaktif (0,97)	Inaktif (0,98)	Inaktif (0,83)	Inaktif (0,98)	Inaktif (0,99)
Peroxisome Proliferator Activated Receptor Gamma (PPAR -Gamma)	Inaktif (0,97)	Inaktif (1,0)	Inaktif (0,99)	Inaktif (0,99)	Inaktif (0,99)	Inaktif (0,99)	Inaktif (0,99)	Inaktif (1,0)	Inaktif (1,0)	Inaktif (1,0)
d. Tox21 – Jalur respons stres										
Faktor Nuklir (turunan eritroid 2) seperti elemen responsif antioksidan (nrf2/ARE)	Inaktif (0,80)	Inaktif (0,88)	Inaktif (0,90)	Inaktif (0,95)	Inaktif (0,96)	Inaktif (0,87)	Inaktif (0,93)	Inaktif (0,69)	Inaktif (0,92)	Inaktif (0,98)
Elemen respons faktor kejut panas (HSE)	Inaktif (0,80)	Inaktif (0,88)	Inaktif (0,90)	Inaktif (0,95)	Inaktif (0,96)	Inaktif (0,87)	Inaktif (0,93)	Inaktif (0,69)	Inaktif (0,92)	Inaktif (0,98)
Potensi Membran Mitokondria	Inaktif (0,74)	Inaktif (0,95)	Inaktif (0,76)	Inaktif (0,87)	Inaktif (0,89)	Inaktif (0,91)	Inaktif (0,86)	Active (0,50)	Inaktif (0,95)	Inaktif (0,90)
Fosfoprotein (Tumor Supressor) p53	Inaktif (0,95)	Inaktif (0,98)	Inaktif (0,98)	Inaktif (0,99)	Inaktif (0,96)	Inaktif (0,99)	Inaktif (0,99)	Inaktif (0,99)	Inaktif (0,99)	Inaktif (0,99)
ATPase keluarga AAA domain yang mengandung protein 5 (ATAD5)	Inaktif (0,99)	Inaktif (1,0)	Inaktif (1,0)							
Lipinski										
BM	236,35 g/mol	204,35 g/mol	222,37 g/mol	204,35 g/mol	204,35 g/mol	204,35 g/mol	204,35 g/mol	222,37 g/mol	204,35 g/mol	204,35 g/mol
Log P	2,95	4,27	3,92	4,58	4,58	4,58	4,73	3,78	4,73	4,27
HBD	1	0	1	0	0	0	0	1	0	0
HBA	26	24	27	24	24	24	24	27	24	24

Senyawa α -CDL hanya mengalami metabolisme oleh inhibitor CYP2C19. Senyawa ELE, β -EUS, GMC, α -HUM, HMO hanya mengalami metabolisme oleh inhibitor CYP2C9.

Berdasarkan Tabel 3, LD₅₀ dari senyawa-

wa-senyawa tersebut berkisar dari 2000 mg/kg hingga 5600 mg/kg dan dikategorikan ke dalam kelas IV, V, dan VI. Dua senyawa termasuk dalam kelas IV (ELE dan β -EUS) dengan nilai LD₅₀ sebesar 2000 mg/kg. Ada 15

senyawa yang termasuk dalam kelas V ($2000 < LD_{50} \leq 5000$), sementara dalam kelas VI terdapat tiga senyawa, yaitu γ -ELM and β -CAR, dengan LD_{50} sebesar 5300 mg/kg dan BUL dengan LD_{50} sebesar 5600 mg/kg. Senyawa-senyawa tersebut tidak aktif dalam parameter hepatotoksisitas dan uji karsinogenisitas. Dalam uji imunotoksisitas, terdapat empat senyawa yang aktif (APH, γ -CAD, α -CDL, α -COP) sementara 16 senyawa lainnya tidak aktif. Sedangkan dalam uji mutagenisitas, tidak ada senyawa yang aktif. Pada parameter uji sitotoksisitas, didapatkan dua senyawa aktif (α -EUS dan γ -EUS). Jalur sinyal reseptor nuklir Tox21 untuk AhR, AR, AR-LBD, ER, ER-LBD, dan PPAR-Gamma menunjukkan bahwa semua senyawa tidak aktif. Dalam uji jalur respons stres Tox21 untuk nrf2/ARE, HSE, MMP, Fosfoprotein (Penekan Tumor) p53, dan ATAD5, 19 senyawa ditemukan tidak aktif. Sementara itu, senyawa -CDL bersifat toksik terhadap MMP.

DISKUSI

Dalam mengkaji aktivitas farmakokinetik dan toksisitas, algoritma komputasi digunakan untuk menganalisis, memodelkan, atau memprediksi toksisitas kimiawi.¹⁴ Pendekatan pk-CSM dapat memprediksi sifat ADMET dari suatu senyawa.¹⁵ Hasil prediksi dari penelitian ini menunjukkan bahwa semua senyawa memiliki kelarutan air rendah dan permeabilitas $CaCO_2$ yang tinggi. Suatu senyawa dikatakan memiliki permeabilitas $CaCO_2$ tinggi jika memiliki nilai $P_{app} > 8 \times 10^{-6}$ cm/s, dan pada prediksi PK-CSM, dikatakan memiliki permeabilitas $CaCO_2$ tinggi jika nilainya $> 0,90$.¹⁶ Se-

mua senyawa memiliki penyerapan GI yang tinggi, namun 18 senyawa memiliki permeabilitas kulit yang rendah. Prediksi distribusi senyawa mencakup VD_{ss} , Fraksi tak terikat, permeabilitas BBB, dan permeabilitas SSP. Semakin tinggi nilai VD , semakin banyak obat yang akan didistribusikan dalam jaringan.¹⁷ Kemampuan suatu obat untuk menembus BBB sangat penting dalam mengurangi efek samping dan toksisitas serta meningkatkan efektivitas dan aktivitas farmakologis obat di otak. Menurut Pires, *et al.*, senyawa dengan nilai $\log BB > 0,3$ akan mudah menembus BBB dengan baik, sementara senyawa dengan nilai $\log BB < -1$ tidak akan didistribusikan dengan baik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua senyawa memiliki nilai $\log BB > 0,3$ kecuali senyawa APH, sehingga dapat diprediksi bahwa 19 senyawa sesquiterpene dari tanaman *Ocimum sanctum* L. dapat menembus BBB dengan baik, dan senyawa APH dapat menembus BBB secara *moderate*.¹⁶ Senyawa yang memiliki nilai $\log PS > -2$ dapat menembus SSP, sementara senyawa dengan nilai $\log PS < -3$ tidak dapat menembus SSP.^{15,16} Studi mengungkapkan bahwa sepuluh senyawa dapat menembus SSP. Prediksi metabolisme senyawa didapatkan 11 senyawa yang tidak mengalami metabolisme oleh sitokrom P450.

Prediksi ekskresi senyawa dapat ditentukan dengan *Total Clearance* dan substrat *Renal Organic Cation Transporter 2* (OCT2). *Total clearance* adalah kombinasi dari *clearance* (keluaran) hati (metabolisme di hati dan empedu) dan keluaran ginjal (ekskresi melalui ginjal). OCT2 adalah transporter di ginjal yang

berperan dalam disposisi dan ekskresi obat dan senyawa endogen. Senyawa OCT2 memiliki potensi untuk interaksi buruk dengan inhibitor OCT2 jika diberikan bersamaan. Dalam penelitian ini, semua senyawa *sesquiterpene* dari tanaman *Ocimum sanctum L.* bukan merupakan substrat OCT2. Uji toksisitas Ames adalah metode yang banyak digunakan untuk menilai potensi mutagenik senyawa dengan menggunakan bakteri.¹⁷ Studi ini menunjukkan bahwa tidak ada senyawa yang memiliki potensi efek mutagenik atau inhibitor. Uji hepatotoksitas mendapatkan bahwa semua senyawa tidak berpotensi beracun.

Uji sensitivitas kulit menemukan bahwa 17 senyawa memiliki potensi menyebabkan alergi kulit, dan ada tiga senyawa (ARO, α -COP, dan LDN) yang berpotensi tidak menyebabkan alergi kulit. Senyawa yang memiliki nilai toksisitas *T. Pyriformis* $>-0,5$ dianggap beracun.^{18,19} Berdasarkan hasil penelitian ini, nilai toksisitas *T. Pyriformis* diperoleh dari 1,057 hingga 1,921, sehingga disimpulkan bahwa semua senyawa berpotensi beracun. Uji toksisitas Minnow mendapatkan nilai yang berkisar dari 0,118 hingga 0,894, dan hanya ada 1 senyawa (γ -CAD) dengan nilai -0,024; ini berarti senyawa tersebut tidak berpotensi beracun. Senyawa dengan nilai di bawah 0,5 mM ($\log LC_{50} <-0,3$) dianggap memiliki toksisitas akut tinggi. Hukum Lipinski menyatakan bahwa suatu senyawa memenuhi jika memiliki BM <500 ; nilai log koefisien partisi oktan-air ($\log P$) lebih kecil dari +5; donor ikatan hidrogen (HBD), yang dinyatakan oleh jumlah gugus O-H dan N-H lebih kecil

dari 5; dan akseptor ikatan hidrogen (HBA) dinyatakan oleh jumlah atom O dan N lebih kecil dari 10.¹⁸

SwissADME membantu mengetahui sifat fisiko-kimia, farmakokinetik obat, dan parameter terkait lainnya untuk satu atau beberapa molekul.²⁰ Delapan senyawa memiliki penyerapan GI tinggi, sementara 12 senyawa lainnya memiliki penyerapan rendah pada saluran GI. Tidak ada yang ditemukan sebagai substrat P-glikoprotein dari 20 senyawa yang diuji. Nilai yang didapatkan dari prediksi permeabilitas kulit berkisar dari -3,21 cm/s hingga -5,61 cm/s. Semakin negatif nilai $\log K_p$, semakin rendah permeabilitas kulit molekul tersebut.²⁰ Parameter distribusi dalam penelitian ini dilihat dari permeabilitas BBB. BBB secara aktif membatasi masuknya zat dari darah dan mengeluarkan molekul-molekul tersebut dari otak.²¹

Parameter prediksi metabolisme senyawa, termasuk inhibitor CYP1A2, inhibitor CYP2C19, inhibitor CYP2C9, inhibitor CYP2D6, dan inhibitor CYP3A4. Studi ini mengungkapkan bahwa senyawa-senyawa APH, BUL, α -EUS, dan γ -EUS tidak mengalami metabolisme oleh enzim-enzim ini. Pada senyawa ARO, α -COP mengalami metabolisme oleh inhibitor CYP1A2, inhibitor CYP2C19, dan inhibitor CYP2C9 serta tidak mengalami metabolisme oleh inhibitor CYP2D6 dan inhibitor CYP3A4. Sementara itu, senyawa α -CAD, β -CAD, γ -CAD, δ -CAD, β -CAR, β -ELM, γ -ELM, dan LDN tidak mengalami metabolisme oleh inhibitor CYP1A2, inhibitor CYP2D6, dan inhibitor CYP3A4 tetapi mengalami metabolisme oleh

inhibitor CYP2C19 dan inhibitor CYP2C9. Senyawa α -CDL hanya mengalami metabolisme oleh inhibitor CYP2C19. Pada senyawa ELE, β -EUS, GMC, α -HUM, dan HMO hanya mengalami metabolisme oleh inhibitor CYP2C9. Delapan belas senyawa memenuhi hukum Lipinski, sehingga senyawa ini mudah diserap dan memiliki permeabilitas yang baik, sementara dua senyawa lainnya tidak memenuhi hukum karena memiliki nilai log P lebih besar dari +5 (GMC dan α -HUM); mereka tidak mudah diserap dan memiliki permeabilitas yang buruk.

Pro-Tox II memiliki keunggulan seperti memprediksi tingkat toksisitas oral, toksisitas organ (hepatotoksitas), titik akhir toksikologi (seperti mutagenisitas, karsinogenisitas, sitotoksitas, dan imunotoksitas), jalur toksisitas, dan toksisitas target, sehingga menunjukkan mekanisme molekuler yang mungkin di balik respons.¹⁸ Kelas toksisitas didefinisikan berdasarkan sistem klasifikasi GHS (*Globally Harmonized System*), yang terbagi menjadi enam kelas. Kelas I ($LD_{50} \leq 5$), kelas II ($5 < LD_{50} \leq 50$), kelas III ($50 < LD_{50} \leq 300$), kelas IV ($300 < LD_{50} \leq 2000$), kelas V ($2000 < LD_{50} \leq 5000$), dan kelas VI ($LD_{50} > 5000$). Semakin tinggi nilai LD_{50} , semakin rendah toksisitasnya.^{18,19} LD_{50} dari senyawa-senyawa berkisar dari 2000 mg/kg hingga 5600 mg/kg, sehingga mereka dikategorikan ke dalam kelas IV, V, dan VI. Pada parameter hepatotoksitas, tidak ada senyawa yang menimbulkan potensi beracun. Pada uji karsinogenisitas, senyawa yang menimbulkan potensi beracun juga tidak ditemukan karena tidak aktif. Dalam uji imunotoksitas, terdapat empat senyawa aktif

(APH, γ -CAD, α -CDL, α -COP) yang menunjukkan potensi beracun, dan 16 senyawa lainnya tidak aktif. Sementara itu, dalam uji mutagenisitas, tidak ada senyawa aktif. Dengan demikian, semua senyawa tidak bersifat mutagenik. Pada uji sitotoksitas, dua senyawa aktif (α -EUS dan γ -EUS) memiliki potensi sitotoksik. Satu senyawa bersifat toksik terhadap MMP (α -CDL), yang berarti senyawa tersebut berpotensi beracun terhadap membran mitokondria tetapi tidak berpotensi beracun terhadap jalur lainnya. Senyawa yang tidak aktif tidak dapat menimbulkan potensi beracun dan tidak bersifat mutagenik. Dalam uji respons stres Tox21, satu senyawa bersifat toksik terhadap MMP, yang berarti senyawa tersebut berpotensi beracun terhadap membran mitokondria tetapi tidak berpotensi beracun terhadap jalur lainnya.

SIMPULAN

Senyawa flavonoid *Ocimum sanctum.L* memiliki LD_{50} berkisar antara 2000 mg/kg hingga 5600 mg/kg sehingga dikategorikan ke dalam kelas toksisitas IV, V, dan VI. Senyawa flavonoid *Ocimum sanctum.L* memiliki sifat imunotoksitas, sitotoksitas, dan MMP.

DAFTAR PUSTAKA

1. Açıköz MA. Establishment of cell suspension cultures of *Ocimum basilicum L.* and enhanced production of pharmaceutical active ingredients. *Ind Crops Prod.* 2020;148:112278.
2. Dharsono HDA, Putri SA, Kurnia D, Dudi D, Satari MH. *Ocimum* species: A review on chemical constituents and antibacterial activity. *Molecules.* 2022;27(19):6350.
3. Almalki DA. Renoprotective Effect of *Ocimum Basilicum* (Basil) Against Diabetes-induced Renal

- Affection in Albino Rats. *Mater Socio-Medica*. 2019 Dec;31(4):236–40.
4. Larasati DA, Apriliana E. Efek potensial daun kemangi (*Ocimum basilicum* L.) sebagai pemanfaatan hand sanitizer. *J Major*. 2016 Dec 1;5(5):124–8.
 5. Thadani S, Salman MT, Tewari S, Singh S, Bhagchandani D, Ahmad A. Renoprotective effect of *Ocimum sanctum* in comparison with Olmesartanmedoxomil and Pitavastatin in Metformin treated diabetic rats. *Int J Pharm Sci Res IJPSR*. 2015;6(10):4433–41.
 6. Chaudhary A, Sharma S, Mittal A, Gupta S, Dua A. Phytochemical and antioxidant profiling of *Ocimum sanctum*. *J Food Sci Technol*. 2020;57(10):3852–63.
 7. Mittal R, Kumar R, Chahal HS. Antimicrobial activity of *Ocimum sanctum* leaves extracts and oil. *J Drug Deliv Ther*. 2018;8(6):201–4.
 8. Sharma P, Joshi T, Joshi T, Chandra S, Tamta S. In silico screening of potential antidiabetic phytochemicals from *Phyllanthus emblica* against therapeutic targets of type 2 diabetes. *J Ethnopharmacol*. 2020;248:112268.
 9. Almatroodi SA, Alsahli MA, Almatroudi A, Rahmani AH. *Ocimum sanctum*: role in diseases management through modulating various biological activity. *Pharmacogn J*. 2020;12(5).
 10. Iqbal Chowdhury I, Rahman MA, Hashem MA, Bhuiyan MMH, Hajjar D, Alelwani W, et al. Supplements of an aqueous combination of *Justicia adhatoda* and *Ocimum tenuiflorum* boost antioxidative effects and impede hyperlipidemia. *Anim Models Exp Med*. 2020;3(2):140–51.
 11. Deore AB, Dhumane JR, Wagh R, Sonawane R. The stages of drug discovery and development process. *Asian J Pharm Res Dev*. 2019;7(6):62–7.
 12. Kiriiri GK, Njogu PM, Mwangi AN. Exploring different approaches to improve the success of drug discovery and development projects: a review. *Future J Pharm Sci*. 2020;6(1):1–12.
 13. Sliwoski G, Kothiwale S, Meiler J, Lowe EW. Computational methods in drug discovery. *Pharmacol Rev*. 2014;66(1):334–95.
 14. Tropsha A, Bajorath J. Computational methods for drug discovery and design. Vol. 59, *Journal of medicinal chemistry*. ACS Publications; 2016. p. 1–1.
 15. Kar S, Leszczynski J. Open access in silico tools to predict the ADMET profiling of drug candidates. *Expert Opin Drug Discov*. 2020;15(12):1473–87.
 16. Reddy S, Fox J, Purohit MP. Artificial intelligence-enabled healthcare delivery. *J R Soc Med*. 2019;112(1):22–8.
 17. Hardjono S. Prediksi sifat farmakokinetik, toksisitas dan aktivitas sitotoksik turunan N-benzoil-N'-(4-fluorofenil) tiourea sebagai calon obat antikanker melalui pemodelan molekul. *J Ilmu Kefarmasian Indones*. 2017;14(2):246–55.
 18. Pires DE, Kaminskis LM, Ascher DB. Prediction and optimization of pharmacokinetic and toxicity properties of the ligand. In: *Computational drug discovery and design*. Springer; 2018. p. 271–84.
 19. Pires DE, Blundell TL, Ascher DB. pkCSM: predicting small-molecule pharmacokinetic and toxicity properties using graph-based signatures. *J Med Chem*. 2015;58(9):4066–72.
 20. Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci Rep*. 2017 Mar 3;7:42717.
 21. Fan J, de Lannoy IAM. Pharmacokinetics. *Biochem Pharmacol*. 2014 Jan 1;87(1):93–120.