

**UJI SITOTOKSIK, TOKSISITAS DAN PREDIKSI SIFAT FISIKOKIMIA
SENYAWA *ISOLIQUIRITIGENIN* DAN *OXYRESVERATROL* TERHADAP
RESEPTOR *B-CELL LYMPHOMA 2 (4AQ3)* DAN *VASCULAR
ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR RECEPTOR-2 (2RL5)* SEBAGAI
TERAPI KANKER SERVIKS SECARA *IN SILICO***

SKRIPSI

Oleh:
MUHAMMAD FAWWAZ HARIZ
NIM. 15670015



**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**

2019

**UJI SITOTOKSIK, TOKSISITAS DAN PREDIKSI SIFAT FISIKOKIMIA
SENYAWA *ISOLIQURITIGENIN* DAN *OXYRESVERATROL* TERHADAP
RESEPTOR *B-CELL LYMPHOMA 2 (4AQ3)* DAN *VASCULAR
ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR RECEPTOR-2 (2RL5)* SEBAGAI
TERAPI KANKER SERVIKS SECARA *IN SILICO***

SKRIPSI

**Diajukan Kepada:
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**

2019

**UJI SITOTOKSIK, TOKSISITAS DAN PREDIKSI SIFAT FISIKOKIMIA
SENYAWA ISOLIQURITIGENIN DAN OXYRESVERATROL TERHADAP
RESEPTOR B-CELL LYMPHOMA 2 (4AQ3) DAN VASCULAR
ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR RECEPTOR-2 (2RL5) SEBAGAI
TERAPI KANKER SERVIKS SECARA *IN SILICO***

SKRIPSI

**Oleh:
MUHAMMAD FAWWAZ HARIZ
NIM. 15670015**

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk diuji:

Tanggal:

Pembimbing I

Pembimbing II



**Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt
NIP. 19800203 200912 2 003**

**Yen Yen Ari I M.Farm.Klin., Apt
NIDT. 19930130 20180201 2 203**

Mengetahui,

Ketua Program Studi Farmasi



**Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt
NIP. 19800203 200912 2 003**

**UJI SITOTOKSIK, TOKSISITAS DAN PREDIKSI SIFAT FISIKOKIMIA
SENYAWA ISOLIQUIRITIGENIN DAN OXYRESVERATROL TERHADAP
RESEPTOR B-CELL LYMPHOMA 2 (4AQ3) DAN VASCULAR
ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR RECEPTOR-2 (2RL5) SEBAGAI
TERAPI KANKER SERVIKS SECARA *IN SILICO***

SKRIPSI

Oleh:
MUHAMMAD FAWWAZ HARIZ
NIM. 15670015

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)

Tanggal:

Ketua Penguji : Yen Yen Ari I, M.Farm.Klin., Apt (.....) NIDT. 19930130 20180201 2 203
Anggota Penguji : 1. Burhan Ma'arif ZA, M.Farm., Apt (.....) NIP. 19900221 201801 1 001
2. Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt (.....) NIP. 19800203 200912 2 003
3. Abdul Hakim, M.P.I, M.Farm., Apt (.....) NIP. 19761214 200912 1 002



Mengesahkan,
Ketua Program Studi Farmasi

Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt
NIP. 19800203 200912 2 003

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Muhammad Fawwaz Hariz

NIM : 15670015

Program Studi : Farmasi

Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Judul Penelitian : Uji Sitotoksik, Toksisitas dan Prediksi Sifat Fisikokimia Senyawa *Isoliquiritigenin* dan *Oxyresveratrol* terhadap Reseptor *B-Cell Lymphoma 2 (4AQ3)* dan *Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2 (2RL5)* sebagai Terapi Kanker Serviks secara *In silico*

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 23 April 2019

Yang membuat pernyataan,



Muhammad Fawwaz Hariz
NIM. 15670015

MOTTO

Tidak ada yang tidak mungkin jika tetap terus berusaha dan terus berdoa.

Kegagalan adalah alasan untuk bangkit demi sebuah keberhasilan



LEMBAR PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'aalamiin

Dengan senantiasa memanjatkan puji syukur ke hadirat Allah SWT beserta Nabi Muhammad SAW sehingga bisa terselesaikannya skripsi ini.

Dengan rasa syukur yang mendalam, kupersembahkan tulisan karya sederhana ini kepada:

1. Kedua orang tuaku, Ayahanda tercinta Drs. Adib Muchamad dan Ibunda tercinta Rumiyyin Afroni. Terimakasih telah memberi doa, dukungan dalam segala bentuk, semangat, dan kasih sayang yang tak pernah putus sehingga saya dapat menempuh sarjana dengan lancar dan selalu memberikan yang terbaik untuk saya.
2. Kedua kakakku M. Fahrudin Mufari Hata beserta istrinya Evin Dwi Hananing, dan kakak perempuanku Zifora Nur Baiti beserta suaminya Fachry Khusaini. terimakasih untuk perhatian, dukungan, doa, dan semangatnya selama ini.
3. Kepada Narastri Wulandari yang telah menemani dari awal hingga akhir, terimakasih untuk setiap detik yang diberikan, perhatian, dukungan, dorongan, semangat dan semua yang telah diberikan selama ini
4. Terimakasih kepada Ibu Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Yen Yen Ari Indrawijaya, M.Farm.Klin., Apt, sebagai pembimbing Bapak Burhan Ma'rif. M.Farm., Apt sebagai penguji dan Bapak Abdul Hakim M.P.I, M.Farm., Apt sebagai penguji agama
5. Terimakasih tak terhingga kepada sahabat, teman-teman tersayang Farmasi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang 2015 yang telah memberikan semangat dan warna selama menempuh perkuliahan. Teman-teman tim riset anti kanker, terimakasih untuk perjuangan, semua motivasi semangat selama ini. Rasa syukur kuucapkan kepada Allah SWT karena telah mengenal kalian. Semoga kita selalu dipertemukan dalam kebaikan. Selamat dan sukses selalu buat kalian
6. Kepada semua pihak yang telah membantu terselesainya skripsi ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Syukur alhamdulillah penulis haturkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Uji Sitotoksik, Toksisitas dan Prediksi Sifat Fisikokimia Senyawa *Isoliquiritigenin* dan *Oxyresveratrol* terhadap Reseptor *B-Cell Lymphoma 2 (4AQ3)* dan *Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2 (2RL5)* sebagai Terapi Kanker Serviks secara *In silico*” dengan baik. Shalawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada unjungan kita baginda Rasulullah Muhammad SAW yang telah membawa ajaran agama islam kepada ummahnya sehingga kita dapat membedakan yang haq dan yang bathil. Skripsi ini merupakan salah satu syarat menyelesaikan program Strata-1 (S-1) di Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang sekaligus menyelesaikan tugas akhir/skripsi ini dengan baik.**

Selanjutnya penulis haturkan ucapan terima kasih seiring do'a dan harapan jazakumullah ahsanal jaza' kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag, selaku rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang, yang telah banyak memberikan pengetahuan dan pengalaman yang berharga.
2. Prof. Dr. dr. Bambang Pardjianto, Sp. B., Sp. BP-REK (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt selaku ketua program studi Farmasi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt dan Yen Yen Ari Indwawijaya. M.Farm.Klin., Apt selaku dosen pembimbing skripsi, yang telah banyak memberikan pengarahan dan pengalaman yang berharga.
5. Segenap sivitas akademik Program studi Farmasi, terutama seluruh dosen, terima kasih atas segenap ilmu dan bimbingannya.
6. Ayahanda dan Ibunda tercinta yang senantiasa memberikan doa dan restunya kepada penulis dalam menuntut ilmu.

7. Kakak penulis yang selalu memberikan semangat kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini.
8. Semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa materiil maupun moril. Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan penulis berharap semoga skripsi ini bias memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya bagi penulis secara pribadi. *Amin Ya Rabbal Alamin.*

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, 23 April 2019

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	
HALAMAN PENGAJUAN	
HALAMAN PERSETUJUAN	
HALAMAN PENGESAHAN	
HALAMAN PERNYATAAN	
MOTTO	
HALAMAN PERSEMBAHAN	
KATA PENGANTAR	
DAFTAR ISI	i
DAFTAR TABEL	iv
DAFTAR GAMBAR	v
DAFTAR LAMPIRAN	vii
DAFTAR SINGKATAN	viii
ABSTRAK	ix
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	7
1.3 Tujuan.....	7
1.4 Manfaat Penelitian.....	8
1.5 Batasan Masalah.....	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1 Metode <i>In silico</i> (<i>Molecular Docking</i>) dalam Perspektif Islam	9
2.2 Pemodelan Molekul.....	10
2.3 Molegro Virtual Docker	12
2.4 <i>B-cell lymphoma 2</i>	12
2.5 <i>Vascular Endothelial Growth Factor Receptor -2</i>	15
2.6 Interaksi Obat-Reseptor.....	18
2.6.1 Ikatan Kovalen.....	19
2.6.2 Ikatan Ionik	19

2.6.3	Interaksi Ion-dipol dan Dipol-dipol	20
2.6.4	Ikatan hidrogen	20
2.6.5	Ikatan Van der Waal's	21
2.6.6	Ikatan hidrofobik.....	21
2.6.7	Transfer Muatan.....	21
2.7	Hukum lima Lipinski	22
2.8	Toksisitas.....	23
2.9	Kanker	24
2.9.1	Kanker serviks	25
2.9.2	Patogenesis HPV 16.....	26
2.10	Tinjauan Senyawa	28
2.10.1	Polifenol.....	28
2.10.1.1	<i>Oxyresveratrol</i>	29
2.10.2	Flavonoid	30
2.10.2.1	<i>Isoliquiritigenin</i>	31
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS		33
3.1	Kerangka Konsep	33
3.1.1	Bagan Kerangka Konseptual	33
3.1.2	Uraian Kerangka Konseptual.....	34
3.2	Hipotesis penelitian	36
BAB IV METODE PENELITIAN		37
4.1	Jenis dan Rancangan Penelitian	37
4.2	Waktu dan Tempat Penelitian	37
4.3	Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	37
4.4	Alat dan Bahan Penelitian	38
4.4.1	Alat.....	38
4.4.2	Bahan	38
4.4.2.1	Struktur Ligan <i>Isoliquiritigenin</i> dan <i>Oxyresveratrol</i>	38
4.4.2.2	Struktur Tiga Dimensi Reseptor 4AQ3.....	39
4.4.2.3	Struktur Tiga Dimensi Reseptor 2RL5	40
4.5	Skema Kerja Penelitian dan Prosedur Penelitian	41
4.5.1	Skema Kerja Penelitian.....	41

4.5.2	Prosedur Penelitian	42
4.5.2.1	Preparasi Ligan.....	42
4.5.2.2	Preparasi Protein Reseptor	42
4.5.2.3	Penambatan Molecular <i>Docking</i>	42
4.5.2.4	Prediksi Sifat Fisikokimia dan Toksisitas Senyawa.....	44
4.6	Analisis Data	45
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN		46
5.1	Pengunduhan Target Protein	46
5.2	Pembuatan Struktur 2 Dimensi, 3 Dimensi, Code SMILES dan Penentuan Energi Minimal	47
5.3	Prediksi sifat fisikokimia dan ADME	51
5.4	Hasil <i>Docking</i> dan Analisis Asam Amino.....	58
5.4.1	Hasil Preparasi Protein 4AQ3 dan 2RL5	58
5.4.2	Hasil Penentuan Lubang (<i>Cavity</i>).....	59
5.4.3	Pengaturan <i>Molegro Virtual Docking</i>	61
5.4.4	Hasil Validasi Reseptor 4AQ3 dan 2RL5.....	62
5.4.5	Hasil Perolehan <i>Docking Score</i>	63
5.4.5.1	Hasil <i>Docking</i> Senyawa <i>Isoliquiritigenin</i> , <i>Oxyresveratrol</i> , <i>2,3-dihydro-1, 4-benzoxazine inhibitor</i> , dan <i>Phenylacysulfonamide inhibitor</i> terhadap Reseptor 4AQ3 (E) dan 2RL5.....	63
5.4.5.2	Hasil Penentuan Energi Ikatan	65
5.4.6	Hasil Interaksi Ligan dengan Asam Amino.....	67
5.4.6.1	Interaksi Residu Asam Amino 4AQ3 (E)	68
5.4.6.2	Interaksi Residu Asam Amino 2RL5	73
5.5	Prediksi Toksisitas secara <i>In Silico</i>	77
5.6	Analisis Data Statistik	79
BAB VI PENUTUP		81
6.1	Simpulan.....	81
6.2	Saran.....	82
DAFTAR PUSTAKA		83

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1	Hasil penentuan energi minimal (kkal/mol) senyawa <i>oxyresveratrol</i> dan <i>isoliquiritigenin</i> dengan <i>MMFF94</i>	48
Tabel 5.2	Hasil code SMILES <i>isoliquiritigenin</i> dan <i>oxyresveratrol</i>	50
Tabel 5.3	Hasil penentuan sifat fisikokimia dan penerapan hukum lima Lipinski terhadap senyawa <i>isoliquiritigenin</i> , <i>oxyresveratrol</i> , <i>2,3-dihydro-1, 4-benzoxazine inhibitor</i> dan <i>Phenylacylsulfonamide inhibitor</i>	52
Tabel 5.4	Hasil prediksi ADME senyawa <i>isoliquiritigenin</i> , <i>oxyresveratrol</i> , <i>2,3-dihydro-1, 4-benzoxazine inhibitor</i> dan <i>Phenylacylsulfonamide inhibitor</i> Menggunakan <i>PkCSM Online Tool</i>	53
Tabel 5.5	Hasil validasi dan nilai RMSD.....	62
Tabel 5.6	Hasil <i>Docking score</i> ligan <i>Isoliquiritigenin</i> , <i>Oxyresveratrol</i> , <i>2,3-dihydro-1, 4-benzoxazine inhibitor</i> , <i>Phenylacylsulfonamide inhibitor</i> terhadap reseptor 2RL5 dan 4AQ3.....	64
Tabel 5.7	Nilai <i>Rerank Score</i> terhadap reseptor 4AQ3 (E) dan 2RL5.....	66
Tabel 5.8	Asam amino dan gugus fungsi yang terlibat dalam proses ikatan hidrogen dan interaksi sterik pada 4AQ3 (E).....	69
Tabel 5.9	Asam amino yang terlibat dalam proses ikatan hidrogen dan interaksi sterik pada reseptor 4AQ3 (E).....	69
Tabel 5.10	Asam amino dan gugus fungsi yang terlibat dalam proses ikatan hidrogen dan interaksi sterik pada reseptor 2RL5.....	74
Tabel 5.11	Asam amino yang terlibat dalam proses ikatan hidrogen dan interaksi sterik pada reseptor 2RL5.....	74
Tabel 5.12	Prediksi toksisitas menggunakan <i>Protox II Online tool</i> dan <i>pkCSM Online tool</i>	78
Tabel 5.13	Analisis uji banding menggunakan uji statistik ANOVA.....	80

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Mekanisme apoptosis melalui jalur mitokondria dan kematian reseptor	13
Gambar 2.2	Ikatan asam amino yang berperan antara 4AQ3 dengan <i>phenylacylsulfonamide inhibitor</i>	15
Gambar 2.3	Mekanisme jalur pensinyalan <i>Vascular endothelial growth factor receptor-2</i>	17
Gambar 2.4	Ikatan asam amino yang berperan antara 2RL5 dengan sorafenib	18
Gambar 2.5	Alur aplikasi pkCSM <i>tool</i>	23
Gambar 2.6	Siklus sel kanker	24
Gambar 2.7	Wilayah pengkodean HPV 16	27
Gambar 2.8	Peran utama E5, E6, dan E7 dalam mekanisme molekuler HPV 16 dan 18 pada infeksi kanker serviks	28
Gambar 2.9	Struktur 2D Oxyresveratrol (4-[(E)-2-(3,5-Dihydroxyphenyl)vinyl]-1,3-benzenediol)	30
Gambar 2.10	Struktur 2D Isoliquiritigenin (2E)-1-(2,4-Dihydroxyphenyl)-3-(4-hydroxyphenyl)-2-propen-1-on)	31
Gambar 3.1	Bagan Kerangka Konsep	33
Gambar 4.1	Struktur tiga dimensi A. Isoliquiritigenin, B. Oxyresveratrol	39
Gambar 4.2	(A) Struktur 3 dimensi <i>B-cell lymphoma 2</i> (4AQ3) (B) Struktur 3 dimensi <i>B-cell lymphoma 2</i> (4AQ3) dengan cavity.....	39
Gambar 4.3	(A)Struktur 3 dimensi Vascular endothelial growth factor receptor-2 (2RL5) (B) Struktur 3 dimensi Vascular endothelial growth factor receptor-2 (2RL5) dengan cavity .	40
Gambar 4.4	Skema kerja penelitian	41

- Gambar 5.1** Struktur dua dimensi *isoliquiritigenin* (A) Struktur dua dimensi senyawa *oxyresveratrol* (B). Struktur tiga dimensi senyawa *isoliquiritigenin* (C). Struktur tiga dimensi senyawa *oxyresveratrol* (D)..... 47
- Gambar 5.2** (A) Reseptor 4AQ3 dan (B) 2RL5..... 59
- Gambar 5.3** Hasil deteksi lubang (cavity) pada (A) reseptor 4AQ3 dan (B) 2RL5 60
- Gambar 5.4** Gambar A. Posisi terbaik senyawa *isoliquiritigenin* (warna ungu), *oxyresveratrol* (warna biru) dan *Phenylacylsulfonamide inhibitor* (warna kuning) terhadap 4AQ3 (E) dengan residu asam amino ditunjukkan *stick style* dan ligan ditunjukkan dengan *thick lines with fixed colour*. Gambar B. Posisi terbaik *isoliquiritigenin* (warna ungu), *oxyresveratrol* (warna biru) dan *Phenylacylsulfonamide inhibitor* (warna kuning) terhadap 4AQ3 (E) 60
- Gambar 5.5** Bentuk dua dimensi ikatan hidrogen antara *Phenylacylsulfonamide inhibitor* (A) *isoliquirtigenin* (B) dan *oxyresveratrol* (C) pada reseptor 4AQ3 (E) dengan garis biru sebagai ikatan hidrogen dan garis merah sebagai ikatan sterik..... 60
- Gambar 5.6** Gambar A. Posisi terbaik *Isoliquiritigenin* (warna ungu), *Oxyresveratrol* (warna biru) dan *2,3-dihydro-1, 4-benzoxazine inhibitor* (warna kuning) terhadap 2RL5 dengan Residu asam amino ditunjukkan *stick style* dan ligan dengan *thick lines with fixed colour*. Gambar B. Posisi terbaik *Isoliquiritigenin* (warna ungu), *Oxyresveratrol* (warna biru) dan *2,3-dihydro-1, 4-benzoxazine inhibitor* (warna kuning) terhadap 2RL5 73
- Gambar 5.7** Bentuk 2 Dimensi ikatan Hidrogen antara (A) *2,3-dihydro-1, 4-benzoxazine inhibitor* (B) *Isoliquirtigenin* dan (C) *Oxyresveratrol* dengan reseptor 2RL5 garis biru sebagai ikatan hidrogen dan garis merah sebagai ikatan sterik. 73

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Hasil Analisis Statistik ANOVA Pada reseptor 4AQ3 (E)..... 99

Lampiran 2 Hasil Analisis Statistik ANOVA Pada reseptor 2RL5..... 100



DAFTAR SINGKATAN

BCL-2	: <i>B-cell lymphoma 2</i>
Bax	: <i>B-cell lymphoma-2-associated X protein</i>
APAF-1	: apoptotic protease activating factor1
VEGFR-2	: Vascular endothelial growth factor receptor-2
MVD	: Molegro Virtual Docker
HPV	: Human Papiloma Virus
Á	: Amstrong
LD ₅₀	: Lethal Dose 50
BM	: Berat Molekul
HBA	: Hydrogen Bond Acceptors
HBD	: Hydrogen Bond Donors
PSA	: Polar Surface Activity
RMSD	: Root Mean Square Deviation
Log P	: logaritma Partisi
Cyt C	: Cytochrome C
Torsion	: jumlah ikatan antar atom yang dapat berotasi

ABSTRAK

Hariz, M. F. 2019. Uji Sitotoksik, Toksisitas dan Prediksi Sifat Fisikokimia Senyawa Isoliquiritigenin dan Oxyresveratrol Terhadap Reseptor *B-cell lymphoma 2* (4AQ3) dan *Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2* (2RL5) sebagai Terapi Kanker Serviks Secara *In Silico*

Pembimbing (I) Dr. Roihatul Muti'ah M.kes., Apt

(II) Yen Yen Ari Indrawijaya M.Farm.Klin., Apt

Isoliquiritigenin dan *oxyresveratrol* merupakan senyawa yang telah dilaporkan memiliki aktivitas antikanker. Pertumbuhan sel kanker sering dikaitkan dengan overekspresi *B-cell lymphoma 2* (BCL-2) sehingga akan menyebabkan kemampuan apoptosis menurun dan akan menimbulkan kanker. Pertumbuhan kanker juga sering dikaitkan dengan overekspresi *Vascular endothelial growth factor receptor-2* (VEGFR-2) sebagai jalur proangiogenik untuk meningkatkan tahap angiogenesis. Penelitian ini bertujuan untuk memprediksi sitotoksik, toksisitas dan sifat fisikokimia dari senyawa *isoliquiritigenin* dan *oxyresveratrol*.

Prediksi sifat fisikokimia mengacu pada hukum lima Lipinski serta dilihat dari hasil absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi dengan menggunakan *pkCSM online tool* Prediksi toksisitas senyawa dengan menggunakan *Protox II online tool* dan prediksi interaksi ligan dengan reseptor menggunakan *Molegro Virtual Docker* (MVD). Dilakukan validasi dengan parameter valid jika nilai RMSD < 2. Protein reseptor kanker yang digunakan adalah BCL-2 (PDB:4AQ3) dan VEGFR-2 (PDB:2RL5).

Hasil menunjukkan bahwa *oxyresveratrol* dan *isoliquiritigenin* memenuhi hukum lima Lipinski, memiliki LD₅₀ 1560mg/kg dan 1048mg/kg. Kedua senyawa tersebut memiliki aktivitas terhadap reseptor 2RL5 dan 4AQ3 (E). Reseptor 4AQ3 (E) dan 2RL5 dinyatakan valid dan memiliki nilai RMSD < 2. Senyawa *oxyresveratrol* memiliki aktivitas lebih baik dibanding *isoliquiritigenin* karena memiliki *Rerank Score* yang paling rendah. *Rerank Score oxyresveratrol* pada 2RL5 : -73.0413, 4AQ4: -87.9985). Aktivitas *oxyresveratrol* juga ditunjukkan oleh ikatan hidrogen pada asam amino yang aktif (2RL5 : Cys 919 pada 4AQ3 : Tyr 67).

Kata Kunci: Sitotoksik, Toksisitas, *isoliquiritigenin*, *oxyresveratrol*, BCL-2, VEGFR-2, kanker serviks, MVD

ABSTRACT

Hariz, M. F. 2019. *In Silico* Test of Cytotoxic Activity, Toxicity and Prediction Physicochemical Properties of Isoliquiritigenin and Oxyresveratrol Compounds to *B-Cell Lymphoma 2* (4AQ3) Receptor and *Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2* (2RL5) as Cervical Cancer Therapy

Advisor (I) Dr. Roihatul Muti'ah M.kes., Apt

(II) Yen Yen Ari Indrawijaya M.Farm.Klin., Apt

Isoliquiritigenin and oxyresveratrol are compounds that have been reported to have anticancer activities. Cancer cell growth is related with overexpression of *B-cell lymphoma 2* (BCL-2) so that it will cause the ability of apoptosis to decrease and cause cancer. Cancer growth is also often related with overexpression *Vascular growth factor receptor-2* (VEGFR-2) as a proangiogenic pathway to improve the angiogenesis stage. This research aimed to predict cytotoxic activity, toxicity and physicochemical properties of the compounds isoliquiritigenin and oxyresveratrol

Prediction of physicochemical properties referred to Lipinski rules of five and seen from the results of absorption, distribution, metabolism and excretion using the pkCSM online tool. Toxicity prediction of compounds using Protox II online tool and prediction interaction of ligand with receptors using Molegro Virtual Docker (MVD). Validation is carried out with valid parameters if the value of RMSD < 2. Proteins of cancer receptor used are BCL-2 (PDB: 4AQ3) and VEGFR-2 (PDB: 2RL5).

In silico predictive results showed that oxyresveratrol and isoliquiritigenin complied with Lipinski rules of five, 1560 mg/kg and 1048 mg/kg respectively. Both of these compounds have activity against 2RL5 and 4AQ3(E) Receptors. 4AQ3 (E) and 2RL5 receptors are valid and have RMSD values <2. Oxyresveratrol compounds have better activity than isoliquiritigenin because oxyresveratrol have the lowest *Rerank Score*. *Rerank Score* oxyresveratrol on 2RL5: -73.0413, 4AQ4: -87.9985. Oxyresveratrol activity is also shown by hydrogen bonds in active amino acids (2RL5: Cys 919 in 4AQ3: Tyr 67).

Keyword: Cytotoxic, Toxicity, *isoliquiritigenin*, *oxyresveratrol*, BCL-2, VEGFR-2, Cervical cancer, MVD

مستخلص البحث

حارس، محمد فواز. 2019. اختبار سمية الخلايا (Sitotoksik)، التأثير السمي (Toksistas) والتنبؤ بخصائص المركبات الفيزيائية الكيميائية إيسوليقيوريتغين (*Isoliquiritigenin*) و أوكسيريسفيراترول (*Oxyresveratrol*) على مستقبل خلية سرطان الغدد الليمفاوية (4AQ3) ومستقبل عامل نمو بطانة الأوعية الدموية-2 (2RL5) كعلاج لسرطان عنق الرحم في السيليكون (*In silico*)

المشرف الأول: د. رائحة المطيعة، الماجستير. المشرف

الثاني: ين آرني إندراويجايا، الماجستير.

تعتبر إيسوليقيوريتغين (*Isoliquiritigenin*) و أوكسيريسفيراترول (*Oxyresveratrol*) مركبي كيميائي الذان تم إبلاغهما بامتلاك نشاط السرطان. نمو الخلايا السرطانية في كثير من الأحيان مرتبط بالإفراط في إخراج خلية سرطان الغدد الليمفاوية (Bcl-2) مما يسبب انخفاض قدرة الاستماتة (*apoptosis*) ونمو السرطان. وغالبا ما يرتبط نمو السرطان أيضا مع الإفراط في إخراج عامل نمو بطانة الأوعية الدموية-2 كوسيلة العوامل المؤكدة للأوعية لزيادة مرحله تولد الأوعية (*angiogenesis*). يهدف هذا البحث إلى التنبؤ بسمية الخلايا، التأثير السمي وخصائص المركبات الفيزيائية الكيميائية من مركبة إيسوليقيوريتغين (*Isoliquiritigenin*) و أوكسيريسفيراترول (*Oxyresveratrol*).

أشار التنبؤ بخصائص المركبات الفيزيائية الكيميائية إلى القانون الخمس لليبينسكي (*Lipinski*) وينظر من نتائج الاستيعاب (absorbsi)، التوزيع (distribusi)، الأيض (metabolisme) والإخراج (ekskresi) باستخدام أداة التنبؤ بالجزئيات الصغيرة للأدوية والسمية (*pkCSM online tool*) على الإنترنت. وأما التنبؤ بسمية المركبة فاستخدم الباحث مختبر افتراضي للتنبؤ بسمية الجزئيات الصغيرة على الإنترنت (*Protox II online tool*) والتنبؤ بالتفاعل بين الرابطة والمستقبل باستخدام (*Molegro Virtual Docker (MVD)*). يتم التحقق من صحة النتائج باستخدام معامل صلاحة إذا كانت درجة RMSD أصغر من 2. بروتينات مستقبل السرطان المستخدمة هي خلية سرطان الغدد الليمفاوية (PDB:4AQ3) وعامل نمو بطانة الأوعية الدموية-2 (PDB:2RL5).

أظهرت نتائج هذا البحث أن أوكسيريسفيراترول (*Oxyresveratrol*) و إيسوليقيوريتغين (*Isoliquiritigenin*) قد استؤفا القانون الخمس لليبينسكي، ولهما LD₅₀ 1560 ملغ/كغ و 1048 ملغ/كغ. هتان المركبتان لهما نشاط على مستقبل عامل نمو بطانة الأوعية الدموية-2 (2RL5) و خلية سرطان الغدد الليمفاوية (4AQ3 (E)). وقد أثبتنا بصحةهما وتمتلك درجة RMSD أصغر من 2. مركبة أوكسيريسفيراترول لها نشاط أفضل من مركبة إيسوليقيوريتغين، لأن لها درجة الترتيب أدني. درجة الترتيب لأوكسيريسفيراترول على 2RL5 هي -73.0413، وعلى 4AQ3 هي -87.99985. وأشارت أيضا إلى نشاط أوكسيريسفيراترول من الترابط الهيدروجيني في الأحماض الأمينية الناشطة (Cys 919 : 2RL5 على Tyr 67 : 4AQ3).

الكلمات الرئيسية: اختبار سمية الخلايا (Sitotoksik)، التأثير السمي (Toksistas)، إيسوليقيوريتغين (*Isoliquiritigenin*)، أوكسيريسفيراترول (*Oxyresveratrol*)، سرطان الغدد الليمفاوية (Bcl-2)، عامل نمو بطانة الأوعية الدموية-2، سرطان عنق الرحم و

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker serviks adalah tumor ganas yang tumbuh di dalam leher rahim/serviks. Kanker ini akan mengenai epitel serviks dan akan menggandakan dan berubah secara patologi anatomi (Prawihardjo, 2010). Kanker serviks dianggap sebagai salah satu penyakit kanker yang paling mematikan selain kanker payudara (Bhatla *et al.*, 2018). Biasanya menyerang wanita berusia 35-55 tahun. 90% penyebab kanker serviks berasal dari sel skuamosa yang melapisi serviks dan 10% berasal dari sel kelenjar penghasil lendir pada saluran serviks yang menuju ke dalam rahim (Amalia, 2009).

Kanker serviks didunia diperkirakan terdapat lebih dari 570.000 kasus baru. Sekitar 90% kematian akibat kanker serviks terjadi dinegara berkembang dan berpenghasilan menengah (Martel *et al.*, 2017). Jumlah penderita kanker serviks di Indonesia menempati urutan kedua terbanyak di Asia setelah Mongolia, yaitu sebanyak 23,4 per 100.000 perempuan per tahun (Bruni *et al.*, 2018). Di indonesia setiap tahun terdapat lebih dari 15.000 kasus kanker serviks baru dan kurang lebih 8.000 kematian. Setiap hari sekitar 40-45 kasus baru ditemukan dan 20-25 perempuan meninggal dunia akibat penyakit kanker serviks (Ahmad, 2016).

Kanker serviks dapat dicegah dengan mengikuti program skrining sitologi seperti tes *pap smear*, dan tes molekul HPV DNA. Pengobatan kanker yang paling

banyak digunakan hingga saat ini meliputi kemoterapi, radiasi dan operasi (Setiawan, 2015). Pengobatan kanker serviks dapat juga dilakukan dengan kemoradioterapi (Liu, 2018). Salah satu agen kemoterapi yang sering digunakan dalam penanganan kanker serviks adalah cisplatin (Dipiro *et al.*, 2008). Resistensi terhadap obat kemoterapi termasuk cisplatin telah menjadi masalah penting dalam perawatan pasien kanker serviks (Wang *et al.*, 2015).

Selain pengobatan dengan menggunakan kemoterapi terdapat pula pencarian sumber obat baru yang berasal dari alam. Pemilihan obat dari bahan alam dikarenakan penggunaan kemoterapi memiliki kelemahan yaitu dapat membunuh sel normal (Wijaya dan Muchtaridi, 2017). Obat dari bahan alam juga memiliki efek samping yang rendah dan aman (Katno dan Pramono, 2017). Sumber obat dari bahan alam dapat diperoleh dengan memanfaatkan tumbuh-tumbuhan yang terdapat di sekitar kita.

Terdapat banyak ayat di dalam Qur'an yang menjelaskan tentang tumbuhan salah satunya Surah Al An'am ayat 99 Allah *subhanahuwata'ala* memerintahkan hamba-Nya untuk memanfaatkan tanaman, termasuk diantaranya adalah tumbuh-tumbuhan yang dapat diberdayakan sebagai salah satu tanda kekuasaan-Nya.

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ
 مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ مِنَ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ
 وَالرَّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ ۗ انظُرُوا إِلَى ثَمَرِهِ إِذَا أَثْمَرَ وَيَنْعِهِ ۗ إِنَّ فِي ذَٰلِكُمْ لَآيَاتٍ
 لِّقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ ﴿٩٩﴾

“Dan Dia-lah yang menurunkan air hujan dari langit lalu Kami tumbuhkan dari air itu segala macam tumbuh-tumbuhan maka kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan itu tanaman yang menghijau. Kami keluarkan dari tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang kurma mengurai tangkai tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan (Kami keluarkan pula) zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah dan (perhatikan pula) kematangannya. Sesungguhnya pada yang demikian itu terdapat tanda-tanda (Kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman” (QS. AL-An'am : 99)

Berdasarkan ayat di atas bahwa Allah telah menumbuhkan tumbuh-tumbuhan dengan air hujan tersebut pepohonan, seperti zaitun, kurma, anggur, dan semua jenis pepohonan lainnya, juga buah-buahan dan sayuran (Aidh, 2008). Menurut pada mufasir tumbuhan, tumbuh melalui beberapa fase hingga buah tersebut matang. Pada fase kematangan, buah ataupun bagian tanaman yang lain akan mengandung berbagai senyawa yang dihasilkan. Sehingga tanaman tersebut dapat dimanfaatkan oleh makhluk hidup lainnya (Shihab, 2002).

Bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) merupakan salah satu tanaman/bahan alam yang telah diuji efektivitasnya. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan fraksi etil asetat Bawang dayak memiliki potensi sebagai anti kanker terhadap sel *hela* dengan nilai IC_{50} sebesar 44.335 $\mu\text{g/ml}$. Senyawa mayor yang ditemukan pada penelitian tersebut adalah senyawa *isoliquiritigenin* dari golongan flavonoid dan senyawa *oxyresveratrol* dari golongan polifenol (Minggarwati., 2017).

Isoliquiritigenin diketahui mampu dalam menghambat kanker serviks dengan cara menginduksi *Caspase-Dependent Apoptosis* melalui penurunan regulasi dari ekspresi HPV16 E6 dengan jalur penghambatan melalui p53 dan Bcl-2. Penelitian Hirchaud (2013) menunjukkan efek sitotoksik ini berlangsung pada

fase G2/M namun pada konsentrasi yang berbeda efek sitotoksik ditunjukkan pada fase G0/G1. Pengaruh *isoliquiritigenin* pada ekspresi protein ditunjukkan pada ekspresi apoptosis protein *B-cell lymphoma-2-associated X protein* (Bax) yang meningkat sedangkan BCL-2 menurun. Selain itu *isoliquiritigenin* juga memiliki aktivitas induksi pada kerusakan DNA (Botta *et al.*, 2005).

Penelitian tentang senyawa *oxyresveratrol* terhadap kanker serviks hingga saat ini belum ditemukan. Tetapi penelitian *andrabi et al* (2004) telah menunjukkan efek anti-apoptosis senyawa *oxyresveratrol* dalam pencegahan *cytochrome-c* (cyt-c) dari mitokondria, berkurangnya caspase-3 dan mengurangi fragmentasi DNA apoptosis.

Pemilihan reseptor *B-cell lymphoma 2* karena reseptor Bcl-2 dalam proses apoptosis adalah sebagai anti apoptosis. Ketika jumlah protein Bcl-2 berlebih akan menyebabkan kemampuan apoptosis menurun dan akan menimbulkan kanker melalui jalur mitokondria. Pemilihan reseptor dengan jalur *Vascular endothelial growth factor receptor-2* karena VEGF/VEGFR2 dianggap sebagai jalur proangiogenik paling penting untuk meningkatkan semua tahap angiogenesis termasuk permeabilitas vaskular, kelangsungan hidup sel endotelial, proliferasi, migrasi atau invasi ke jaringan sekitar, dan pembentukan pembuluh darah kapiler (Hoi *et al.*, 2014). Apabila jalur VEGFR-2 dihambat tidak akan terbentuk pembuluh darah baru yang berfungsi pada kelangsungan hidup sel kanker. Kode PDB protein dari *B-cell lymphoma 2* adalah 4AQ3 dengan ligan *phenylacysulfonamide inhibitor* dan kode PDB *Vascular endothelial growth factor receptor-2* adalah 2RL5 dengan ligan *2,3-dihydro-1,4-benzoxazine inhibitor*

Kemajuan teknologi komputer pada saat ini dapat menjadi salah satu cara untuk dilakukan penelitian dan penemuan obat baru. Penemuan obat baru dengan metode komputer atau *in silico* merupakan metode yang baru dan tidak ada dizaman nabi namun Allah *subhanahuwata'ala* memerintahkan untuk selalu berpikir dan berilmu sehingga dapat memahami ilmu pengetahuan baru. Salah satunya pada Qur'an Surah Al Ankabut ayat 43:

وَتِلْكَ الْأَمْثَلُ نَضْرِبُهَا لِلنَّاسِ وَمَا يَعْقِلُهَا إِلَّا الْعَالِمُونَ ﴿٤٣﴾

“Dan perumpamaan-perumpamaan ini Kami buat untuk manusia; dan tiada yang memahaminya kecuali orang-orang yang berilmu.” (QS. Al Ankabut : 43)

Makna dari ayat ini menurut Tafsir al-Jalalain adalah (Dan perumpamaan-perumpamaan ini) yang ada dalam Alquran (Kami buat) Kami jadikan (untuk manusia; dan tiada yang memahaminya) yang mengerti akan perumpamaan-perumpamaan ini (kecuali orang-orang yang berilmu) yakni, orang-orang yang berpikir. Ilmu pengetahuan dan teknologi dalam islam dipandang sebagai kebutuhan manusia dan sebagai bagian pelaksanaan kewajiban manusia sebagai makhluk yang berakal (Muslimin, 2014)

Ilmu pengetahuan dan teknologi komputasi yang semakin maju dan berkembang merupakan peluang untuk mengembangkan simulasi dan kalkulasi dalam merancang obat. Metode yang digunakan pada suatu kondisi ke dalam simulasi komputer dengan menggunakan program tertentu disebut metode *in silico*. Metode *in silico* dapat digunakan dalam memprediksi toksisitas, sifat fisikokimia, sifat farmakokinetik dan *molecular docking* (Hardjono, 2016).

Molecular docking adalah metode dalam struktur biologi molekuler dan penemuan obat berdasarkan struktur. *Molecular docking* dapat digunakan untuk

mengetahui interaksi antara suatu ligan (senyawa) dengan molekul target yaitu reseptor, enzim dan protein. Interaksi ligan (senyawa) dengan reseptor dapat divisualisasikan dengan metode komputasi dan dapat digunakan untuk mengetahui farmakofor dari suatu senyawa (Ekins *et al.*, 2007). Untuk melakukan simulasi *molecular docking* dibutuhkan aplikasi *docking*. *Molegro Virtual Docker* (MVD) digunakan karena memiliki kemampuan yang terintegrasi dalam mempelajari, memprediksi dan menampilkan interaksi ligand dengan makromolekul (Manual Molegro Virtual Docker, 2013). Tujuan *docking* protein-ligan adalah untuk memahami dan memprediksi kemungkinan ikatan molekul yang ada dan memprediksi afinitas suatu ikatan (Kartasasmita *et al.*, 2010).

Penelitian ini penting untuk dilakukan karena dalam pengembangan obat kanker diperlukan untuk memprediksi aktivitas sitotoksik, toksisitas dan sifat fisikokimia. Obat berdasarkan bahan alam diharapkan dapat menjadi salah satu solusi dalam pemilihan obat kanker. Pengembangan obat kanker berdasarkan bahan alam dikarenakan bahan alam tidak memiliki efek samping seperti obat kemoterapi yang dapat membunuh sel normal. Uji yang dilakukan pada penelitian ini adalah uji sitotoksik, uji toksisitas dan prediksi sifat fisikokimia senyawa *isoliquiritigenin* dan *oxyresveratrol*. Uji aktivitas sitotoksik ditunjukkan dengan ikatan protein-ligan yang terjadi, serta afinitas dan interaksi dengan asam amino antara senyawa dengan reseptor 4AQ3 dan 2RL5. Keamanan dari suatu senyawa yang masuk di dalam tubuh akan ditunjukkan dengan LD₅₀, *skin sensitization*, *Ames toxicity* dan *Hepatotoxicity* secara *in silico*. Kemudahan senyawa untuk di absorpsi dan permeabilitasnya ditunjukkan dengan terpenuhinya hukum lima Lipinski.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimana sifat fisikokimia senyawa *isoliquiritigenin* dan *oxyresveratrol* secara *in silico*?
2. Bagaimana aktivitas sitotoksik senyawa *isoliquiritigenin* dan *oxyresveratrol* yang ditunjukkan dengan ikatan dengan reseptor *B-cell lymphoma 2 (4AQ3)* dan *Vascular endothelial growth factor receptor-2 (2RL5)* secara *in silico*?
3. Berapa toksisitas senyawa *isoliquiritigenin* dan *oxyresveratrol* secara *in silico*?

1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Menguji bagaimana sifat fisikokimia senyawa *isoliquiritigenin* dan *oxyresveratrol* secara *in silico*.
2. Menguji aktivitas sitotoksik senyawa *isoliquiritigenin* dan *oxyresveratrol* sebagai obat kanker serviks terhadap reseptor *B-cell lymphoma 2 (4AQ3)* dan *Vascular endothelial growth factor receptor-2 (2RL5)* secara *in silico*.
3. Menguji berapa toksisitas senyawa *isoliquiritigenin* dan *oxyresveratrol* secara *in silico*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah memberikan informasi dan ilmu tentang aktivitas sitotoksik, toksisitas dan sifat fisiokimia senyawa *isoliquiritigenin* dan *oxyresveratrol* sebagai anti kanker melalui *B-cell lymphoma 2 (4AQ3)* dan *Vascular endothelial growth factor receptor-2 (2RL5)*.

1.5 Batasan Masalah

Batasan Masalah pada penelitian ini adalah

1. Ligan (senyawa) yang digunakan adalah *isoliquiritigenin* dan *oxyresveratrol*.
2. Protein target yang digunakan adalah *B-cell lymphoma 2 (4AQ3)* dan *Vascular endothelial growth factor receptor-2 (2RL5)*.
3. Uji *in silico* antara ligan (senyawa) *isoliquiritigenin* dan *oxyresveratrol* dengan reseptor target menggunakan aplikasi *Molegro Virtual Docker 6.0*.
4. Parameter *molecular docking* berupa *Rerank Score*, nilai RMSD, ikatan hidrogen, ikatan sterik, jarak ikatan.
5. Parameter kelas toksisitas berdasarkan LD_{50} , *skin sensitization*, *Ames toxicity* dan *Hepatotoxicity* menggunakan *Protox online tool* secara *in silico*.
6. Parameter prediksi sifat fisikokimia berupa berat molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktanol/air (Log P), jumlah ikatan antar atom yang dapat berotasi (Torsion), *Hydrogen Bond Acceptors (HBA)*, *Hydrogen Bond Donors (HBD)* dan *Polar Surface Activity (PSA)* menggunakan aplikasi *pkCMS online tool*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Metode *In silico* (*Molecular Docking*) dalam Perspektif Islam

Metode *in silico* merupakan metode yang sekarang sering digunakan sebagai penemuan dan pengembangan suatu obat. Metode ini termasuk cara untuk mengidentifikasi senyawa baru dengan cepat dan murah (GoLDenhuys, 2006). Informasi kimia pada metode *in silico* dapat dengan mudah diintegrasikan ke dalam proses penemuan obat yang modern (Bleicher *et al.*, 2003).

Kemajuan teknologi komputer pada saat ini dapat menjadi salah satu cara untuk dilakukan penelitian dan penemuan obat baru. Penemuan obat baru dengan metode komputer atau *in silico* merupakan metode yang tidak ada dizaman nabi namun Allah *subhanahuwata'ala* memerintahkan untuk selalu berpikir dan berilmu sehingga dapat memahami ilmu pengetahuan baru. Salah satunya pada Qur'an Surah Al Ankabut ayat 43:

وَتِلْكَ الْأَمْثَلُ نَضْرِبُهَا لِلنَّاسِ وَمَا يَعْقِلُهَا إِلَّا الْعَالِمُونَ ﴿٤٣﴾

“Dan perumpamaan-perumpamaan ini Kami buat untuk manusia; dan tiada yang memahaminya kecuali orang-orang yang berilmu.” (QS. Al Ankabut : 43)

Makna dari ayat ini menurut Tafsir al-Jalalain adalah (Dan perumpamaan-perumpamaan ini) yang ada dalam Alquran (Kami buat) Kami jadikan (untuk manusia; dan tiada yang memahaminya) yang mengerti akan perumpamaan-perumpamaan ini (kecuali orang-orang yang berilmu) yakni, orang-orang yang berpikir. Ilmu pengetahuan dan teknologi dalam islam dipandang sebagai

kebutuhan manusia dan sebagai bagian pelaksanaan kewajiban manusia sebagai makhluk yang berakal (Muslimin, 2014)

Metode yang digunakan pada suatu kondisi ke dalam simulasi komputer dengan menggunakan program tertentu disebut metode *in silico*. (Hardjono, 2016). Salah satu metode *in silico* adalah Simulasi *Docking* yang menunjukkan suatu proses yang terjadi oleh dua molekul secara bersamaan dalam ruang tiga dimensi. *Molecular docking* telah memberikan kontribusi yang sangat penting dalam proses penemuan obat. Merancang dan mengembangkan obat baru baik yang berasal dari bahan alam maupun hasil sintesis, memerlukan teknik untuk menentukan dan memprediksi sifat fisika kimia molekul obat dan mengetahui gambaran senyawa dalam berinteraksi dengan reseptor (schlick, 2010).

2.2 Pemodelan Molekul

Pemodelan molekul (*Molecular docking*) merupakan suatu cabang ilmu kimia untuk mengetahui dan evaluasi sifat sifat molekul dan struktur menggunakan kimia komputasi modern dan grafik molekul dengan teknik visualisasi tiga dimensi (Siswandono, 2016). *Molecular docking* banyak digunakan dalam bidang kimia dan biologi komputasional untuk mempelajari sifat molekul dari sistem yang kecil (obat) hingga molekul biologis yang besar (reseptor), serta proses interaksi aksi obat pada tingkat molekul dan atom melalui simulasi proses interaksi obat-reseptor (*docking*) dengan bantuan komputer (Hinchliffe, 2008). dan untuk memprediksikan konformasi protein atau molekul asam nukleat (DNA atau RNA), dan ligan. Dengan kata lain, molekuler *docking* digunakan untuk memprediksikan struktur

antarmolekul yang kompleks terbentuk antara dua atau lebih konstituen molekul (Dias, 2008).

Pengaplikasian pemodelan molekul dapat dilakukan menggunakan perangkat lunak berupa aplikasi. Aplikasi yang sering digunakan pada basis windows antara lain: Autodock, ArgusLab, LeadIt, Molegro Virtual Docker, ChemOffice Ultra, Hyperchem, Accelrys Discovery Studio, Molecular Operating Environment (MOE), Maestro Schrodinger, SYBYL, dll. (Chikhi & bensegueni, 2008). Pemodelan molekul ini membutuhkan biaya yang lebih ringan dan waktu yang lebih efisien dibandingkan dengan menggunakan metode secara farmakologi (Tang & Marshall, 2011).

Metode ini memiliki dua cara dalam menganalisis aktivitas biologi molekuler dalam perancangan obat, yaitu adalah rancangan obat berbasis ligan apabila telah diketahui struktur molekul aktif beserta reseptornya (*ligand based drug design*) yang dapat disebut rancangan obat secara tidak langsung, dan yang kedua adalah rancangan berbasis struktur apabila belum diketahui struktur molekul aktifnya dan telah didapatkan reseptor target yang di inginkan (*structure based drug design*) atau rancangan obat secara langsung (Siswandono, 2016)

Ligand based drug design merupakan prediksi ikatan pada protein target dengan menggunakan metode komputasi yang struktur 3 dimensi target yang telah diketahui. Tujuan utama dari *ligand based drug design* adalah mencari gugus gugus yang bertanggung jawab terhadap aktivitas (farmakofor). Gugus yang bertanggung jawab terhadap aktivitas dapat menurunkan aktivitas, serta memiliki sifat-sifat lipofilik, elektronik, dan sterik/geometrik dari gugus (Siswandono, 2016).

Structure based drug design dilakukan apabila struktur tiga dimensi dari protein target tidak ada ataupun apabila diharuskan untuk mencari kesimpulan hubungan struktur aktivitas. Metode ini menggunakan model farmakofor untuk menemukan kandidat obat. Pada prinsipnya metode ini adalah merancang molekul-molekul yang dapat masuk dalam lubang (*cavity*) pada sisi reseptor dan dapat berinteraksi dengan reseptor (target biologis) secara serasi (*docking*) (Siswandono, 2016).

2.3 Molegro Virtual Docker

Molegro Virtual Docker (MVD) adalah aplikasi yang terintegrasi untuk mempelajari dan memprediksi interaksi ligand dengan makromolekul. Identifikasi ikatan ligand dilakukan dengan evaluasi secara berulang ulang dan memperkirakan energi ikatannya dengan suatu makromolekul. (Manual Molegro Virtual Docker, 2013).

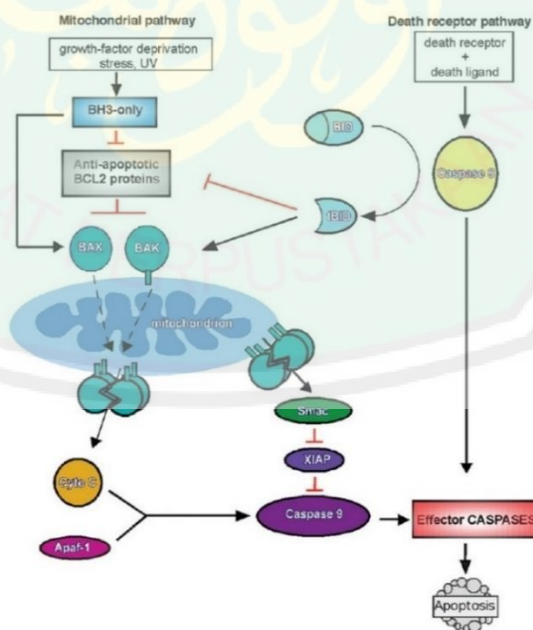
Program Molegro Virtual Docker (MVD) ini digunakan karena ketepatan akurasi *docking* MVD terbukti lebih baik dari program *docking* yang sejenisnya dengan presentase MVD 87%, Glide 82%, Surflex 75%, Flex 58% (Thomson and Christensen, 2006).

2.4 *B-cell lymphoma 2*

B-cell lymphoma 2 adalah salah satu agen anti-apoptosis yang berperan dalam apoptosis sel kanker serviks. Peran dari Bcl-2 pada pembentukan sel kanker serviks adalah ketika jumlah protein Bcl-2 berlebih akan menyebabkan kemampuan apoptosis menurun dan akan menimbulkan kanker. Overekspresi Bcl-2 dapat

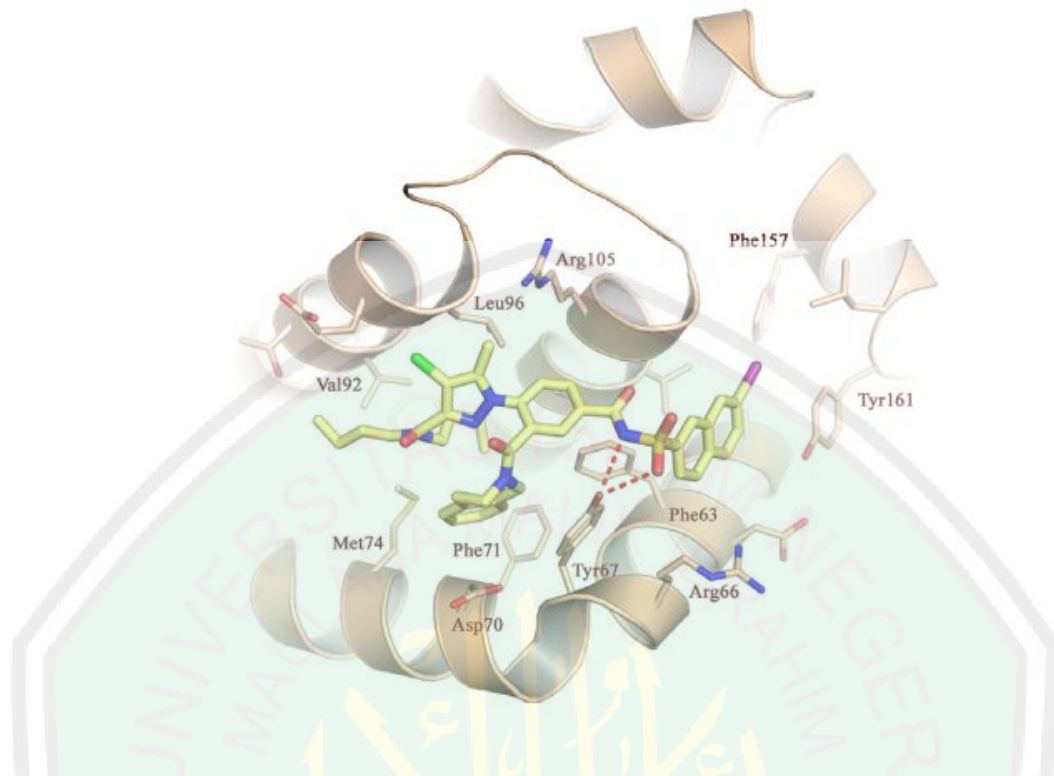
menghambat pelepasan sitokrom-c dari mitokondria. Sitokrom-c tidak akan mengikat *apoptotic protease activating factor 1* (Apaf-1), kemudian tidak terbentuk kompleks teraktivasi dari (d)ATP, sehingga caspase-3 tidak teraktivasi dan akan menyebabkan penghambatan apoptosis dan menimbulkan kanker (Weyhenmayer, dkk., 2012).

Mekanisme Bcl-2 dalam proses apoptosis adalah sebagai anti apoptosis yang mengontrol keluarnya *cytochrome-c* dari mitokondria. Bcl-2 memiliki 2 keluarga protein yaitu *B-cell lymphoma 2 antagonist/ killer* (BAK) dan *B-cell lymphoma 2-associated X protein* (BAX) yang bertanggung jawab langsung dalam melewati membran terluar mitokondria. Setelah itu terbentuk *cytochrome-c* (cyt-c), smac dan protein intramembran mitokondria lainnya yang kemudian dilepas dan diaktivasi oleh *downstream caspases* sehingga terjadi apoptosis (Gambar 2.1) (Dai *et al.*, 2016).



Gambar.2.1 Mekanisme apoptosis melalui jalur mitokondria dan kematian reseptor (Dai *et al.*, 2016).

Kode protein dari reseptor *B-cell lymphoma 2* pada *protein data bank* (PDB) yaitu 4AQ3. Peneliti Mala *et al* (2015) telah menggunakan reseptor *B-cell lymphoma 2* sebagai agen anti-apoptosis dengan kode protein 4AQ3. 4AQ3 digunakan karena memiliki ligand asli *phenylacylsulfonamide inhibitor* dengan nama IUPAC *N,N-dibutyl-4-chloranyl-1-[2-(3,4-dihydro-1H isoquinolin-2-ylcarbonyl) 4 - [(7-iodanyl naphthalen-2yl) sulfonyl carbamoyl] phenyl]-5-methyl-pyrazole-3 carboxamide*. *phenylacylsulfonamide inhibitor* pada penelitian Perez *et al* (2012) merupakan senyawa yang telah dilakukan penelitian dan memiliki ikatan afinitas terhadap reseptor BCL-2/BCL-XL ganda. Selain itu senyawa *phenylacylsulfonamide inhibitor* terbukti menginduksi penanda marker dari dari apoptosis (seperti Pelepasan cytochrome C, dan oligomerisasi BAK) di mitokondria. Asam amino yang berperan pada 4AQ3 adalah Arg 105, Leu 96, Phe 157, Tyr161, Val 92, Tyr 67, Asp 70, Met 74, Arg 66, Phe 71 and Phe 63 (Gambar 2.2) (Mala *et al.*, 2015).



Gambar 2.2 Ikatan asam amino yang berperan antara 4AQ3 dengan *phenylacetylsulfonamide inhibitor* (perez *et al.*, 2012).

2.5 *Vascular Endothelial Growth Factor Receptor -2*

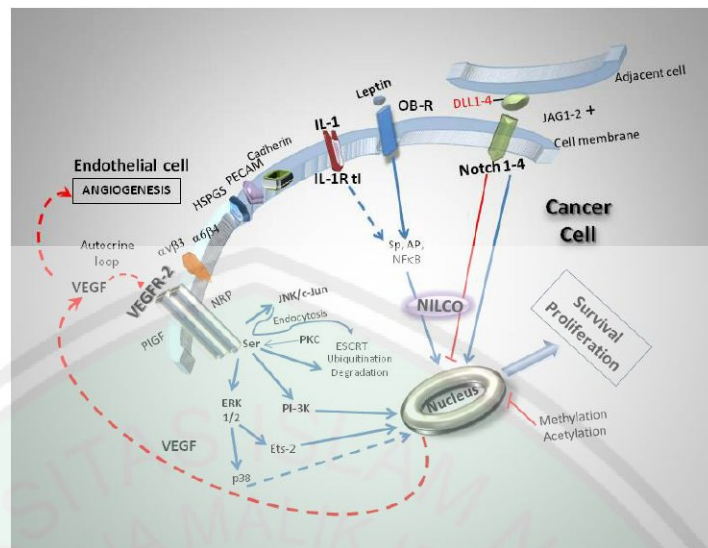
Vascular endothelial growth factor receptor-2 (VEGFR-2) merupakan salah satu reseptor yang berikatan antara *Vascular endothelial growth factor (VEGF)* dengan reseptor tyrosin-kinase. VEGF memiliki peran penting yaitu menstimulasi *endotelial cell survival* pada pembuluh darah yang baru terbentuk. VEGF juga merupakan stimulator kuat untuk proliferasi sel endotel, serta produksi dan migrasi aktivator plasminogen yang dibutuhkan untuk degradasi matriks ekstraselular. (Keman, 2014)

Perkembangan kanker sering dikaitkan dengan ekspresi VEGF, dan jalur sinyal VEGF/VEGFR-2 yang pada umumnya dianggap sebagai mediator utama tumor angiogenesis, sehingga VEGF/VEGFR-2 merupakan sistem target untuk

pengobatan pada kanker. VEGFR telah divalidasi secara klinis dan banyak digunakan untuk terapi kanker. VEGF/VEGFR2 dianggap sebagai jalur proangiogenik paling penting untuk meningkatkan semua tahap angiogenesis termasuk permeabilitas vaskular, kelangsungan hidup sel endotelial, proliferasi, migrasi atau invasi ke jaringan sekitar, dan pembentukan pembuluh darah kapiler. (Hoi *et al.*, 2014).

VEGFR-2 memiliki peran penting dalam perkembangan kanker serviks. Pada epitel serviks normal VEGFR-2 tidak terdeteksi, tetapi positif pada neoplasia serviks intraepitel dan kanker serviks sel skuamosa (Jach *et al.* 2010). Hal ini didukung dengan adanya penelitian dari Longatto-Filho *et al.* (2009) yang menunjukkan bahwa pada kasus kanker serviks pengamatan VEGFR-2 menunjukkan hasil positif dalam 22 kasus dari 30 kasus (73.3%).

Mekanisme molekular dari VEGFR-2 yaitu dengan mengendalikan ekspresinya pada proses angiogenesis dan karsinogenis. Regulasi dari ekspresi VEGFR-2 melibatkan serangkaian mekanisme yang kompleks diantaranya perubahan epigenik, regulasi transkripsi, *cellular localizaiton* dan *trafficking*, pengikatan ligan, aktivitas co-aktivator, ekspresi molekul adhesi, jalur turunan pensinyalan *constitutive-embryonic* dan regulasi *cytokine growth factor* (Gambar 2.3) (Guo *et al.*, 2012).

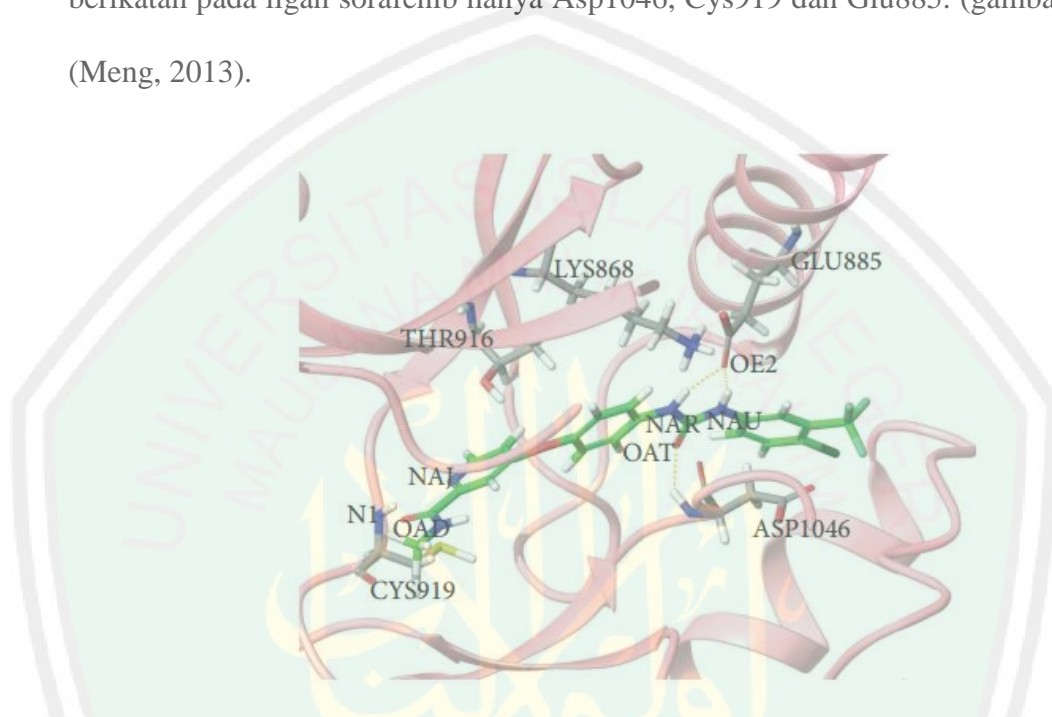


Gambar 2.3 Mekanisme jalur pensinyalan *Vascular endothelial growth factor receptor-2* (Guo *et al.*, 2012).

Senyawa *isoliquiritigenin* pada penelitian Wang *et al* (2013) telah berhasil dalam menghambat sel kanker payudara dengan melalui VEGFR-2. Penghambatan senyawa *isoliquiritigenin* dilaporkan melalui jalur pensinyalan cascade pada sel endothel. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *isoliquiritigenin* secara signifikan dapat menghambat aktivitas kinase VEGFR-2, dengan dosis IC_{50} 100 nM.

Kode protein dari VEGFR-2 pada *protein data bank* (PDB) yaitu 2RL5. 2RL5 dipilih dan digunakan karena memiliki native ligan 2,3-dihydro-1,4-benzoxazine dengan nama IUPAC *n*-(4-chlorophenyl)-7-[(6,7-dimethoxyquinolin-4-yl)oxy]-2,3-dihydro-1,4-benzoxazine-4-carboxamide. Pada penelitian La *et al* (2008) melaporkan 2,3-dihydro-1,4-benzoxazine telah terbukti menjadi inhibitor yang efektif dari angiogenesis. Penelitian Meng (2013) telah menggunakan protein 2RL5 dengan menggunakan ligan sorafenib. Sorafenib merupakan salah satu molekul yang dapat menghambat berbagai reseptor tyrosin kinase salah satunya

adalah VEGFR-2 (Seno, dkk., 2011). Keseluruhan asam amino yang berperan adalah Asp1046, Cys919, Glu885, Lys868, Leu840, Val848, Ala866, Ile888, Leu889, Val899, Phe918, Tyr916, and Leu1035. Namun asam amino yang berikatan pada ligan sorafenib hanya Asp1046, Cys919 dan Glu885. (gambar 2.4) (Meng, 2013).



Gambar 2.4 Ikatan asam amino yang berperan antara 2RL5 dengan sorafenib (Meng, 2013).

2.6 Interaksi Obat-Reseptor

Interaksi obat-reseptor sangat tergantung pada sifat-sifat geometri, informasi dan elektronik dari molekul obat dan reseptor. Perkembangan teori kimia dan metode komputasional modern yang dipadukan dengan teknologi komputer yang canggih, mampu mensimulasikan proses interaksi obat-reseptor. Prinsip dasarnya adalah mengekspresikan sifat sifat geometri, konformasi dan elektronik dari molekul obat dan reseptor menjadi fungsi energi, dan dengan meminimalkan fungsi energi akan didapat dalam bentuk geometri yang optimal dan paling stabil,

yang mencerminkan kekuatan ikatan obat-reseptor. Kekuatan ikatan obat-reseptor inilah yang dapat menunjukkan aktivitas biologis obat, yang dinyatakan dengan *Rerank Score (RS)*.

Nilai *Root Mean Square Deviation (RMSD)* adalah metode validasi yang dapat digunakan dalam proses *docking* (Marcou dan Rognan, 2007). Nilai RMSD $<2\text{\AA}$ menunjukkan keakuratan perhitungan dan kemiripan dua buah struktur (Ferwadi dkk, 2017). Kemiripan tersebut diukur berdasarkan perbedaan jarak atom sejenis (Ruswanto, 2015). Struktur yang memiliki energi paling rendah merupakan struktur yang sangat mirip dengan struktur hasil *docking* (Prasojo *et al*, 2010). Interaksi ligan-reseptor melibatkan ikatan-ikatan kimia, seperti: Ikata-ikatan kovalen, hidrogen, van der waals, hidrofobik, ionik(elektrostatik), dipol-dipol dan transfer muatan (Young, 2009).

2.6.1 Ikatan Kovalen

Ikatan kovalen terbentuk bila ada dua atom saling menggunakan sepasang elektron secara bersama-sama. Ikatan kovalen merupakan ikatan kimia yang paling kuat. Dengan ikatan yang kuat ini pada suhu normal ikatan bersifat ireversibel dan hanya dapat dipecah bila ada pengaruh katalisator enzim tertentu. Interaksi obat-reseptor melalui ikatan kovalen menghasilkan kompleks yang cukup stabil, dan sifat ini dapat digunakan untuk tujuan pengobatan tertentu. (Siswandono, 2016).

2.6.2 Ikatan Ionik

Ikatan ionik adalah ikatan yang dihasilkan oleh daya tarik menarik elektrostatik antara ion-ion yang muatannya berlawanan. Kekuatan tarik menarik

akan makin berkurang bila jarak antar ion makin jauh dan pengurangan tersebut berbanding terbalik dengan jaraknya (Siswandono, 2016).

2.6.3 Interaksi Ion-dipol dan Dipol-dipol

Adanya perbedaan keelektronegatifan atom C dengan atom yang lain, seperti O dan N, akan membentuk distribusi elektron tidak simetrik atau dipol, yang mampu membentuk ikatan dengan ion atau dipol yang lain, baik yang mempunyai daerah kerapatan elektron tinggi maupun yang rendah. Gugus karbonil, ester, amida, eter, dan nitril merupakan gugus-gugus yang memiliki fungsi dipolar (Siswandono, 2016).

2.6.4 Ikatan hidrogen

Ikatan hidrogen adalah ikatan yang terjadi antara hidrogen (atom H) dengan atom yang bersifat elektronegatif dan mempunyai sepasang elektron bebas dengan oktet lengkap, seperti F,O,N (Bruice, 2003). Ikatan hidrogen yang kekurangan elektron pada umumnya akan terikat melalui ikatan kovalen dengan atom yang bersifat elektronegatif, seperti nitrogen dan oksigen (Siswandono, 2016). Ikatan hidrogen paling kuat ketika molekul berada dalam orientasi interaksi elektrostatik yang maksimum. Keadaan ini terjadi ketika atom hidrogen dan dua atom lain yang berikatan berada dalam satu garis, dimana atom akseptor berada segaris dengan ikatan kovalen antara atom donor dan atom H (Nelson & Cox, 2001). Dalam sistem biologis, baik donor maupun akseptor biasanya merupakan atom nitrogen atau oksigen, khususnya atom dalam gugus amina (-NH₂) dan hidroksil (-OH). Karena ikatan antara N-H dan O-H bersifat polar, atom H-nya dapat berikatan hidrogen dengan atom akseptor (Lodish *et al.*, 2000).

2.6.5 Ikatan Van der Waal's

Ikatan Van der Waal's merupakan kekuatan tarik menarik antar molekul atau atom yang tidak bermuatan, dan letaknya berdekatan. Ikatan ini terjadi karena sifat kepolaran molekul atom (siswandono, 2016). Ketika dua atom mendekati satu sama lain, kedua atom ini membentuk gaya tarik yang lemah dan nonspesifik yang menyebabkan interaksi van der Waals. Kekuatan interaksi van der Waals berkurang drastis ketika jarak molekul meningkat sehingga interaksi ini hanya terbentuk ketika atom-atom terletak dekat. Jika atom terletak terlalu dekat, maka atom-atom tersebut saling tolak menolak karena adanya muatan negatif pada kulit elektron terluar (Lodish *et al.*, 2000).

2.6.6 Ikatan hidrofobik

Ikatan hidrofobik adalah Molekul nonpolar tidak mengandung ion, memiliki momen dipol atau terhidrasi. Karena molekul tersebut tak larut atau hampir tak larut dalam air (Lodish, *et al.*, 2000). Ikatan ini merupakan salah satu kekuatan penting pada proses penggabungan daerah non polar molekul obat dengan daerah nonpolar reseptor biologis. Daerah non polar molekul obat yang tidak larut dalam air dan molekul-molekul air disekelilingnya, akan bergabung melalui ikatan hidrogen membentuk struktur *quasi-crystalline (icebergs)* (Siswandono, 2016).

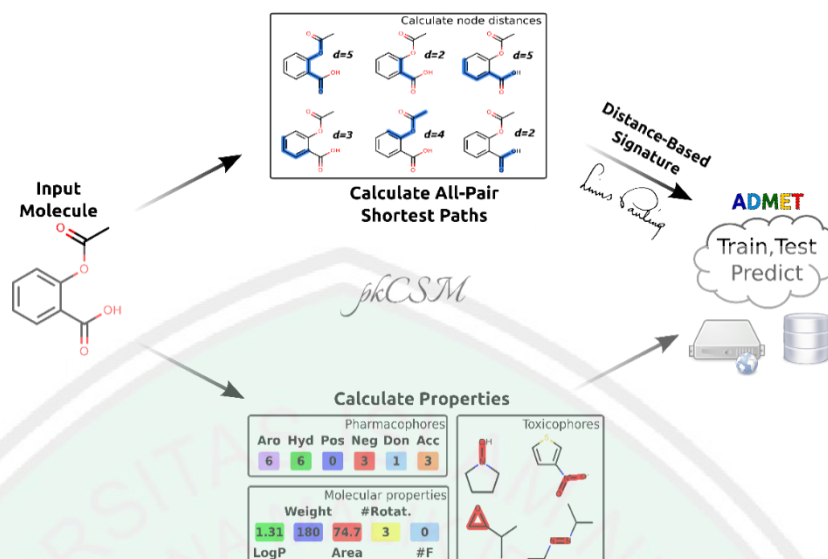
2.6.7 Transfer Muatan

Kompleks yang terbentuk antara dua molekul melalui ikatan hidrogen merupakan kasus khusus dari fenomena umum kompleks donor-aseptor, yang distabilkan melalui daya tarik menarik elektrostatis antara molekul donor elektron dan molekul aseptor elektron. Kompleks transfer muatan dikelompokkan menjadi

dua yaitu senyawa yang berfungsi sebagai donor elektron dan sebagai aseptor elektron. Makromolekul sistem biologis yang bekerja sebagai komponen reseptor mempunyai gugus protein atau asam amino yang dapat membentuk omplek melalui transfer muatan yaitu a. Sebagai donor elektron, b. Sebagai aseptor eletron c. Sebagai donor dan aseptor elektron (Siswandono, 2016).

2.7 Hukum lima Lipinski

Lipinski *et al.*(1997) telah menganalisis 2.245 obat dari data dasar *WorLD Drugs Index*. Hasil analisis menyimpulkan bahwa senyawa akan sulit diabsorpsi dan permeabilitasnya rendah apabila mempunyai: berat molekulnya lebih besar 500, nilai log koefisien partisi oktanol/air (log P) lebih besar +5; ikatan-H donor (HBD), yang dinyatakan dengan jumlah gugus O-H dan N-H, lebih besar 5; dan ikatan-H aseptor (HBA), yang dinyatakan dengan jumlah atom O dan N, lebih besar 10. Analisis tersebut dikenal sebagai hukum lima Lipinski karena semua nilai merupakan kelipatan dari angka lima. Analisa dengan menggunakan hukum lima Lipinski dapat digunakan untuk membuktikan bahwa senyawa yang diuji mudah diabsorpsi dan mempunyai permeabilitas yang baik. Prediksi sifat fisikokimia seperti: berat molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktanol/air (Log P), jumlah ikatan antar atom yang dapat berotasi (Torsion); *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), *Hydrogen Bond Donors* (HBD), dan *Polar Surface Activity* (PSA) dilakukan dengan menggunakan *pkCSM online tool* (Gambar 2.5) (Kesuma dkk., 2018).



Gambar 2.5 Alur aplikasi pkCSM tool (Pires *et al.*, 2015)

2.8 Toksisitas

Uji toksisitas dilakukan untuk mendapatkan informasi atau data tentang toksisitas suatu bahan (kimia) pada hewan uji. Secara umum uji toksisitas dapat dikelompokkan menjadi uji toksisitas jangka pendek/akut, dan uji toksisitas jangka panjang (Donatus, 2005). Uji *Ames Toxicity* adalah metode yang digunakan secara luas untuk menilai potensi mutagenik senyawa dengan menggunakan bakteri. (Kesuma *et al.*, 2018). LD₅₀ digunakan untuk menilai potensi toksisitas jangka pendek suatu bahan. LD₅₀ ditetapkan sebagai tanda statistik pada pemberian suatu bahan sebagai dosis tunggal yang dapat menyebabkan kematian 50% hewan uji (Priyanto, 2010). Uji toksisitas secara eksperimental laboratorium membutuhkan tenaga, fasilitas, waktu dan biaya mahal. Sebaliknya prediksi toksisitas dari model Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas (HKSA) telah digunakan untuk mendukung hipotesis dan memprioritaskan studi eksperimental lebih lanjut (Djalil dkk, 2012)

Klasifikasi kelas toksisitas senyawa didasarkan pada *Globally Harmonized System (GHS)*, kelas toksisitas antara lain adalah kelas I: fatal jika tertelan ($LD_{50} \leq 5 \text{ mg/kg}$), kelas II : fatal jika tertelan ($5 < LD_{50} \leq 50 \text{ mg/kg}$), kelas III: beracun jika tertelan ($50 < LD_{50} \leq 300 \text{ mg/kg}$), kelas IV: berbahaya jika tertelan ($300 < LD_{50} \leq 2000 \text{ mg/kg}$), kelas V: bisa berbahaya jika tertelan ($2000 < LD_{50} \leq 5000 \text{ mg/kg}$), kelas VI: tidak beracun ($LD_{50} > 5000 \text{ mg/kg}$) (El-din *et al.*, 2016)

2.9 Kanker

Kanker adalah suatu penyakit yang terjadi akibat pertumbuhan sel pada jaringan tubuh secara terus-menerus dan tidak terkendali (Dipiro *et al.*, 2008). Kanker merupakan penyakit yang heterogen dan kompleks yang disebabkan oleh akumulasi lesi genetik, yang meningkatkan aktivitas gen pengatur sehingga mendorong proliferasi sel dan menurunkan aktivitas protein yang biasanya menghambat. (Loddo *et al.*, 2009).



Gambar 2.6 Siklus sel kanker (Mycek *et al.*, 2001).

Siklus sel memiliki empat fase berurutan. Fase yang paling penting adalah fase S, ketika terjadi replikasi DNA, dan fase M ketika sel membelah menjadi dua.

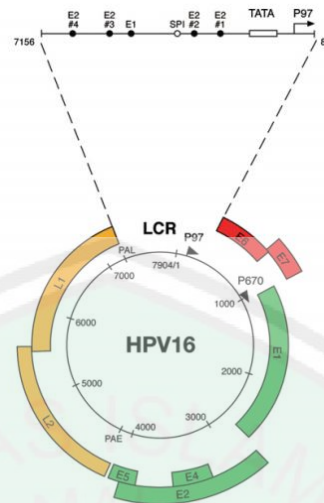
Interfase terdiri dari fase S, G1 dan G2. G1 memiliki fungsi yaitu memproduksi enzim yang diperlukan untuk DNA. G2 adalah fase setelah fase S ketika sel mempersiapkan untuk masuk pada fase mitosis (Murray dan Hunt, 1993). G0 adalah fase istirahat, Sel pada fase G0 masih potensial untuk berproliferasi yang disebut sel klonogenik atau sel induk (stem sel). Jadi yang dapat menambah jumlah sel kanker adalah sel yang dalam siklus proliferasi dan dalam fase G0 (Gambar 2.6) (Williams dan Stoeber, 2012).

2.9.1 Kanker serviks

Kanker leher rahim (kanker serviks) adalah tumor ganas yang tumbuh didalam leher rahim/serviks, bagian terendah dari rahim yang menempel pada puncak vagina, kanker serviks biasanya menyerang wanita berusia 35-55 tahun. 90% dari kanker serviks berasal dari sel skuamosa yang melapisi serviks dan 10% sisanya berasal dari sel kelenjar penghasil lendir pada saluran servikal yang menuju ke dalam rahim (Amalia, 2009). Kanker serviks timbul dari leher rahim, di mana sel-sel serviks menjadi tidak normal mulai tumbuh tidak terkendali, dan membentuk tumor. Sekitar 90% dari neoplasia intraepitel dapat dikaitkan dengan infeksi *human papillomavirus* (HPV). Hanya HPV tipe tertentu yang menyebabkan lesi intraepitel tingkat tinggi dan kanker. HPV yang paling umum adalah HPV-16, HPV-18, HPV-31, HPV-33, HPV-35, HPV-39, HPV-45, HPV-51, HPV-52, HPV-56, dan HPV-58. Tipe 16 adalah bentuk paling umum dari HPV yang ditemukan dalam peningkatan kanker (Haliemariam *et al.*, 2017). Kanker serviks biasanya membutuhkan waktu 10 hingga 15 tahun, untuk berubah dari keadaan pra-kanker ke kanker (Sulaiman *et al.*, 2015).

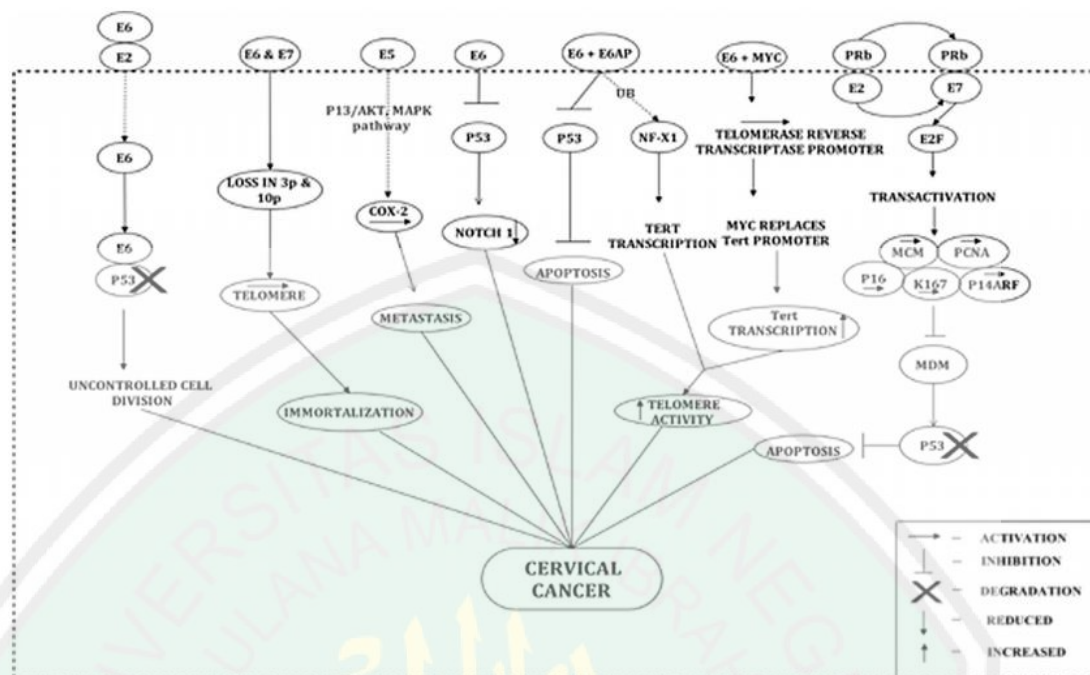
2.9.2 Patogenesis HPV 16

HPV 16 mengandung DNA (*double helix*) sebagai materi genetiknya, Genomnya memiliki tujuh area pengkodean fungsional yaitu; E1 / E2: kode protein yang mengontrol fungsi E6 dan E7 gen, E4: fungsi gen pengkode protein ini sebagian besar tidak diketahui tetapi dapat mengontrol pelepasan virus dari sel, E5: kode untuk protein hidrofobik yang meningkatkan kekebalan sel, E6: gen pengkode protein yang menghambat regulator negatif dari siklus sel dan lebih lanjut menghambat p53 yang merupakan faktor transkripsi untuk apoptosis, E7: kode untuk protein virus yang mengikat ke protein retinoblastoma tumor suppressor yang berperan dalam supresor poliferasi sel, L1 / L2: kode protein struktural yang memiliki fungsi pada pembentukan virus yang terlambat, LCR (Long Control Region) adalah tempat yang terletak diantara E dan L yang diperlukan untuk replikasi virus normal dan kontrol ekspresi gen. (Faridi *et al.*, 2011). Replikasi HPV 16 dimulai dengan replikasi DNA virus yang berbeda dengan kromosom seluler. Di proses pembagian ini, satu sel anak bergerak terpisah dari lamina basal untuk melakukan proses diferensiasi. Wilayah pengkodean E1 dan E2 menjadi faktor pengenalan dan regulator untuk transkripsi awal virus (Gambar 2.7) (Levinson, 2008).



Gambar 2.7 Wilayah pengkodean HPV 16 (Chung *et al.*, 2010).

Tiga protein utama pada HPV 16 yang berhubungan dengan penyebab kanker serviks adalah protein HPV 16 E5, E6, E7, (Narisawa-Saito dan Kiyono, 2007). Protein E6 dan E7 penting untuk penghambatan gen supresor tumor yaitu p53 dan pRb (Tsai dan Chen, 2003). Protein E5 diketahui memiliki sifat onkogenik lemah yang mengakibatkan peningkatan aktivitas *epidermal growth factor receptor* (EGFR) dan menghambat ekspresi *major histocompatibility complex* (MHC) (Gambar 2.8) (Faridi *et al.*, 2011).



Gambar 2.8 Peran utama E5, E6, dan E7 dalam mekanisme molekuler HPV 16 dan 18 pada infeksi kanker serviks (Ramakrisnan *et al.*, 2015).

Infeksi HPV pada sel kanker serviks *Hela* akan berikatan dengan *tumor suppressor* protein p53, dimana p53 ini akan tertekan expresinya. (Goodwin dan Dimaio, 2000). Penekanan ini akan menginduksi protein anti-apoptosis *B-cell lymphoma 2* yang menyebabkan timbulnya kanker karena jumlah protein Bcl-2 yang berlebih dan menyebabkan kemampuann untuk apoptosis menurun (Liana, 2017).

2.10 Tinjauan Senyawa

2.10.1 Polifenol

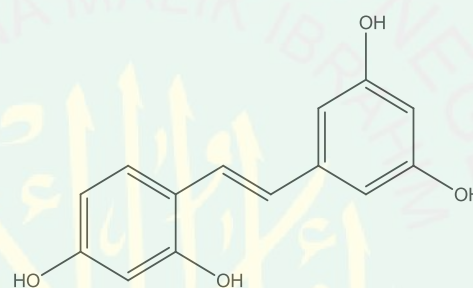
Polifenol adalah kelompok zat kimia yang ditemukan pada tumbuhan. Zat ini memiliki ciri khas yaitu memiliki banyak gugus fenol dalam molekulnya. Polifenol memiliki spektrum luas dengan sifat kelarutan berbeda akibat jumlah dan posisi gugus OH yang berbeda. Antioksidan dari senyawa turunan polifenol dapat

menstabilkan radikal bebas dengan melengkapinya kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas. Polifenol merupakan komponen yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antioksidan pada tumbuhan (Hattenschwiler dan Vitousek, 2000). Polifenol dapat dibagi menjadi 2 yaitu flavonoid dan nonflavonoid. Flavonoid dibagi menjadi tujuh subkelompok: flavanol, flavanon, flavonol, flavon, isoflavon, antosianidin, proantosianidin, sedangkan kelompok non-flavonoid diantaranya adalah stilbene, asam fenolik, lignan dan polifenol lainnya (Moga *et al.*, 2016).

2.10.1.1 *Oxyresveratrol*

Oxyresveratrol memiliki rumus kimia inti $C_{14}H_{12}O_4$ (4-[(E)-2-(3,5-Dihydroxyphenyl)vinyl]-1,3-benzenediol) yang merupakan senyawa Polifenol turunan dari resveratrol (Gambar 2.9) (Sangsen *et al.*, 2018). *Oxyresveratrol* banyak ditemukan pada akar, daun, batang dan buah yang banyak tersebar termasuk pada tanaman famili moraceae, liliaceae dan gnetaceae (Xu *et al.*, 2014). *Oxyresveratrol* memiliki efek sebagai neuroprotektif dan antioksidan yang kuat. Penelitian Chuanasa *et al* (2008) menunjukkan bahwa *oxyresveratrol* memiliki aktifitas biologi sebagai anti-virus herpes simplek (herpes Simplex Virus atau HSV-1), penelitian Chung *et al* (2003) menunjukkan bahwa *oxyresveratrol* memiliki aktifitas antiinflamasi, penelitian Lorenz *et al* (2003) menunjukkan efek sebagai antioksidan, penelitian Likhitwitayawuid *et al* (2006) menunjukkan efek sebagai antiherpetic and anti-HIV dan pada penelitian Andrabi *et al* (2004) memiliki efek anti-apoptosis and neuroprotektif.

Penelitian yang dilakukan Andrabi *et al* (2004) menunjukkan efek anti-apoptosis senyawa oxyresveratrol berperan dalam pencegahan cyt c dari mitochondria. Pencegahan ini ditunjukkan dengan positif pengurangan cyt c pada 4 jam dan 24 jam setelah *treatment*. Oxyresveratrol juga dapat mencegah aktivasi caspase-3. Ditunjukkan dengan berkurangnya caspase-3 setelah *treatment*. Oxyresveratrol dapat juga mengurangi fragmentasi DNA apoptosis yang ditunjukkan dengan hasil positif berkurangnya sel apoptain setelah *treatment*.



Gambar 2.9 Struktur 2D *Oxyresveratrol* (4-[(E)-2-(3,5-Dihydroxyphenyl)vinyl]-1,3-benzenediol). (Minggarwati, 2017)

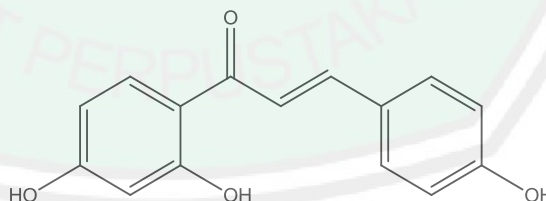
2.10.2 Flavonoid

Flavonoid adalah sekelompok senyawa alami dengan variabel struktur fenolik dan ditemukan pada tumbuhan. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan virgili *et al* (2004) senyawa flavonoid dapat menghambat pertumbuhan sel kanker serviks dengan aktivitas antiestrogenik. Senyawa flavonoid mempunyai mekanisme antiproliferatif. kemampuan flavonoid dalam menghambat poliferasi sel dipengaruhi oleh kemampuan flavonoid dalam memodulasi *Esterogen Reseptor- α* (*ER- α*). *Esterogen Reseptor- α* (*ER- α*) adalah salah satu anggota reseptor inti yang memperantarai aksi hormon esterogen (17B-estradiol) didalam tubuh, seperti

pertumbuhan, perkembangan, dan homeostasis dari berbagai organ dan jaringan (nilsson *et al.*, 2001).

2.10.2.1 *Isoliquiritigenin*

Isoliquiritigenin yang memiliki struktur ((2E)-1-(2,4-Dihydroxyphenyl)-3-(4-hydroxyphenyl)-2-propen-1-on) (Gambar 2.10). *Isoliquiritigenin* merupakan flavonoid alami golongan khalkon yang ditemukan pada fraksi etil acetat umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr), akar kayumanis atau Licorice (*Glycyrrhiza uralensis*), *Sinofranchetia chinensis*, *Dalbergia odorifera* dan kedelai (*Glycine max*). (Mutiah dkk, 2017; Cao *et al.*, 2004; Pan *et al.*, 2000; Chan *et al.*, 1998; Kape *et al.*, 1992). *Isoliquiritigenin* memiliki aktivitas pencegahan kanker seperti antiinflamasi, antioksidan, agregasi antiplatelet, ateroprotektif, dan efek estrogenik. *Isoliquiritigenin* memberikan efek antitumor dengan mengubah beberapa target molekuler dan mengatur aktivitas apoptosis dan *autophagic* (Wang *et al.*, 2014). Selain itu juga memediasi aktivitas kemopreventif yang signifikan. (Cuendet, *et al.*, 2010).



Gambar 2.10 Struktur *Isoliquiritigenin* ((2E)-1-(2,4-Dihydroxyphenyl)-3-(4-hydroxyphenyl)-2-propen-1-on) (Mutiah dkk., 2017)

Penelitian Iwashita *et al* (2000) menunjukkan *isoliquiritigenin* mampu menghambat sel pertumbuhan dan menginduksi apoptosis pada sel B16 melanoma 4A5 melalui penghambatan transportasi transmembran glukosa dan meningkatkan

ekspresi Bax. Penelitian Ma *et al* (2001) Menunjukkan *isoliquiritigenin* dapat menginduksi apoptosis dari sel MGC-803 kanker lambung. Penelitian Hsu *et al* (2004) juga menunjukkan *isoliquiritigenin* menghambat proliferasi and menginduksi apoptosis dari kanker paru paru pada sel a549. *Isoliquiritigenin* memiliki efek sitotoksik yang sangat sedikit pada jaringan normal *in vitro* dan *in vivo* (Wu *et al.*, 2016).

Isoliquiritigenin diketahui mampu dalam menghambat kanker serviks dengan cara menginduksi *Caspase-Dependent Apoptosis* melalui penurunan regulasi dari ekspresi HPV16 E6. Penelitian Hirchaud (2013) menunjukkan bahwa efek sitotoksik pada 4 sel line yaitu *Ca Ski*, *SiHa*, *Hela* dan *C-33A* berlangsung pada fase G2/M namun pada konsentrasi yang berbeda efek sitotoksik ditunjukkan pada fase G0/G1. Pengaruh *isoliquiritigenin* pada ekspresi protein ditunjukkan pada ekspresi apoptosis protein *B-cell lymphoma 2-associated X protein* (Bax) yang meningkat sedangkan protein *B-cell lymphoma 2* menurun.

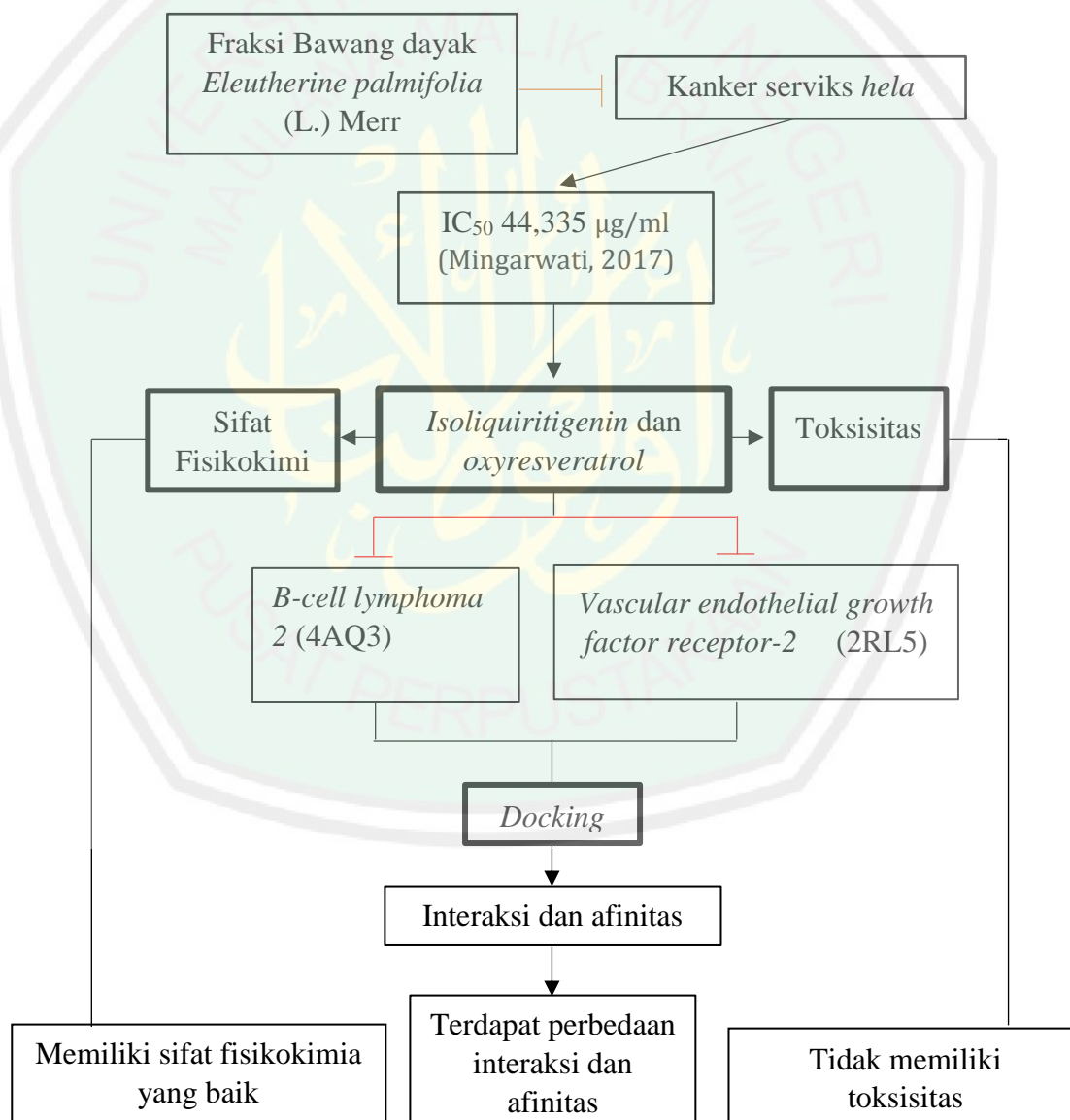
BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep


3.1.1 Bagan Kerangka Konseptual


Kerangka konseptual dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:



Gambar 3.1. Bagan Kerangka Konsep

Keterangan :

 : Tidak diteliti

 : Diteliti

 : Memicu

 : Menghambat

3.1.2 Uraian Kerangka Konseptual

Penelitian yang telah dilakukan minggarwati (2017) menunjukkan bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) memiliki aktifitas sebagai antikanker pada kanker serviks. Dengan adanya penelitian tersebut maka diperlukan adanya penelitian mengenai aktivitas sitotoksik, toksisitas dan sifat fisikokimia. Senyawa mayor yang ditemukan pada penelitian tersebut adalah (2E)-1-(2,4-Dihydroxyphenyl)-3-(4-hydroxyphenyl)-2-propen-1-on) yang disebut Senyawa *isoliquiritigenin* dan *trans*-2,3,4,5-tetrahydroxystilbene yang disebut *oxyresveratrol*. Hasil penelitian minggarwati (2017) menunjukkan fraksi etil asetat Bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) memiliki potensi sebagai antikanker terhadap sel *hela* dengan nilai IC₅₀ sebesar 44.335 µg/ml.

Senyawa *isoliquiritigenin* dan *oxyresveratrol* pada uji sitotoksik digunakan sebagai ligan dari reseptor *B-cell lymphoma 2* yang memiliki code protein 4AQ3 dan *Vascular endothelial growth factor receptor-2* yang memiliki kode protein 2RL5. Penyiapan ligan dilakukan dengan aplikasi menggunakan *Chem Bio Draw Ultra* versi 12 dan *Chem Bio 3D Ultra* versi 12. Selanjutnya dilakukan *docking* dari ligan terhadap reseptor tersebut. Perbedaan tempat reseptor akan menimbulkan

interaksi dan afinitas yang berbeda yang ditandai dengan ikatan hidrogen, interaksi dengan asam amino pada reseptor dan ikatan sterik serta energi ikatan yang digambarkan dengan nilai *Rerank Score (RS)*.

Senyawa *isoliquiritigenin* dan *oxyresveratrol* pada uji toksisitas dan prediksi fisikokimia digunakan *SMILES untuk diketahui code senyawa sehingga dapat dilakan uji fisikokimia dengan mengetahui berat molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktanol/air (Log P), jumlah ikatan antar atom yang dapat berotasi (Torsion); *Hydrogen Bond Acceptors (HBA)*, *Hydrogen Bond Donors (HBD)*, dan *Polar Surface Activity (PSA)* sehingga akan terpenuhinya hukum lima lipinski. Untuk mengetahui toksisitas senyawa akan dikategorikan berdasarkan kelas toksistas dengan mengetahui nilai LD_{50} , *skin sensitization*, *Ames toxicity* dan *Hepatotoxicity*. Klasifikasi toksisitas senyawa berdasarkan *Globally Harmonized System (GHS)*. kelas I: fatal jika tertelan ($LD_{50} \leq 5$ mg/kg), kelas II : fatal jika tertelan ($5 < LD_{50} \leq 50$ mg/kg), kelas III: beracun jika tertelan ($50 < LD_{50} \leq 300$ mg/kg), kelas IV: berbahaya jika tertelan ($300 < LD_{50} \leq 2000$ mg/kg), kelas V: bisa berbahaya jika tertelan ($2000 < LD_{50} \leq 5000$ mg/kg), kelas VI: tidak beracun ($LD_{50} > 5000$ mg/kg).

3.2 Hipotesis penelitian

Berdasarkan kerangka konsep diatas dapat dirumuskan hipotesis sebagai berikut:

1. Senyawa *isoliquiritigenin* dan *oxyresveratrol* memiliki sifat fisikokimia yang baik ditunjukkan dengan terpenuhinya hukum lima lipinski secara *in silico*.
2. Terdapat perbedaan interaksi dan afinitas senyawa *isoliquiritigenin* dan *oxyresveratrol* dengan *B-cell lymphoma 2 (4AQ3)* dan *Vascular endothelial growth factor receptor-2 (2RL5)* secara *in silico*
3. Senyawa *isoliquiritigenin* dan *oxyresveratrol* tidak memiliki toksisitas ditunjukkan dengan nilai $LD_{50} > 2000$ mg/kg dan ≤ 5000 mg/kg secara *in silico*.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan yaitu penelitian eksperimental laboratoris secara *in silico* dari senyawa *Isoliquiritigenin* dan *oxyresveratrol* terhadap reseptor *B-cell lymphoma 2* (PDB:4AQ3) dan *Vascular endothelial growth factor receptor-2* (PDB:2RL5) menggunakan aplikasi *Chem Bio Draw Ultra* Versi 12 (*CambridgeSoft*), *Chem Bio 3D Ultra* Versi 12 (*CambridgeSoft*), *Molegro Virtual Docker 6.0* (*Molegro ApS*), *SMILES Translator*, *pkCSM online tool*, *Protox online tool*.

4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Juni sampai November 2018 di Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

a. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah senyawa *isoliquiritigenin* dan *oxyresveratrol*

b. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah nilai RMSD, *Rerank Score*, ikatan hidrogen, ikatan sterik, jarak ikatan, berat molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktanol/air (Log P), jumlah ikatan antar atom yang dapat berotasi (Torsion); *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), *Hydrogen Bond Donors* (HBD), *Polar Surface Activity* (PSA), LD₅₀, *skin sensitization*, *Ames toxicity*, *Hepatotoxicity*

c. Variabel Kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah *B-cell lymphoma 2* (4AQ3) dan *Vascular endothelial growth factor receptor-2* (2RL5)

4.4 Alat dan Bahan Penelitian

4.4.1 Alat

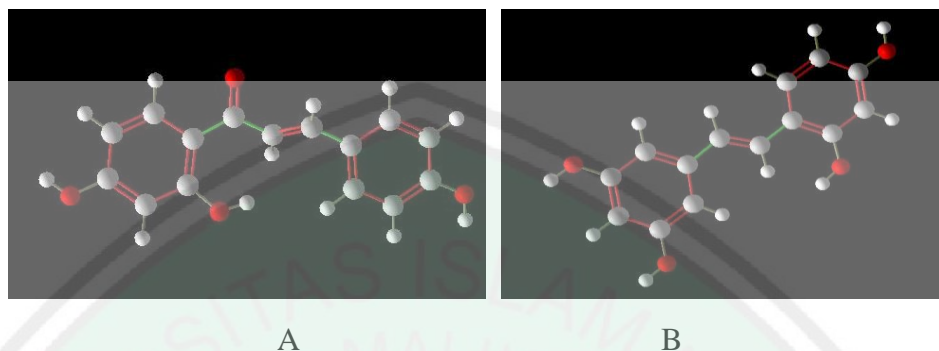
Alat yang perangkat keras berupa satu set laptop dengan spesifikasi: *Processor* tipe Intel® Core™ i3 Inside™, RAM 4 GB, dan harddisk 500 GB serta perangkat lunak sistem operasi *Windows™* Seven Ultimate, *Chem Bio Draw Ultra* Versi 12 (CambridgeSoft), *Chem Bio 3D Ultra* Versi 12 (CambridgeSoft), *Molegro Virtual Docker* 6.0 (Molegro ApS), *pkCSM*, *Prottox online tool*.

4.4.2 Bahan

4.4.2.1 Struktur Ligan *Isoliquiritigenin* dan *Oxyresveratrol*

Ligan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu struktur dari *Isoliquiritigenin* dan *oxyresveratrol*. digambar strukturnya dengan aplikasi *Chem*

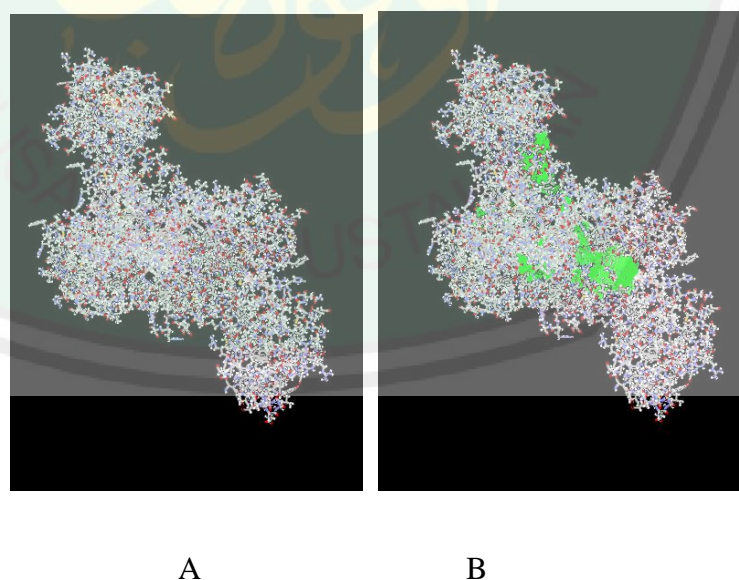
Bio Draw Ultra Versi 12 (CambridgeSoft), *Chem Bio 3D Ultra* Versi 12 (CambridgeSoft).



Gambar 4.1 Struktur tiga dimensi A. *Isoliquiritigenin*, B. *Oxyresveratrol*

4.4.2.2 Struktur Tiga Dimensi Reseptor 4AQ3

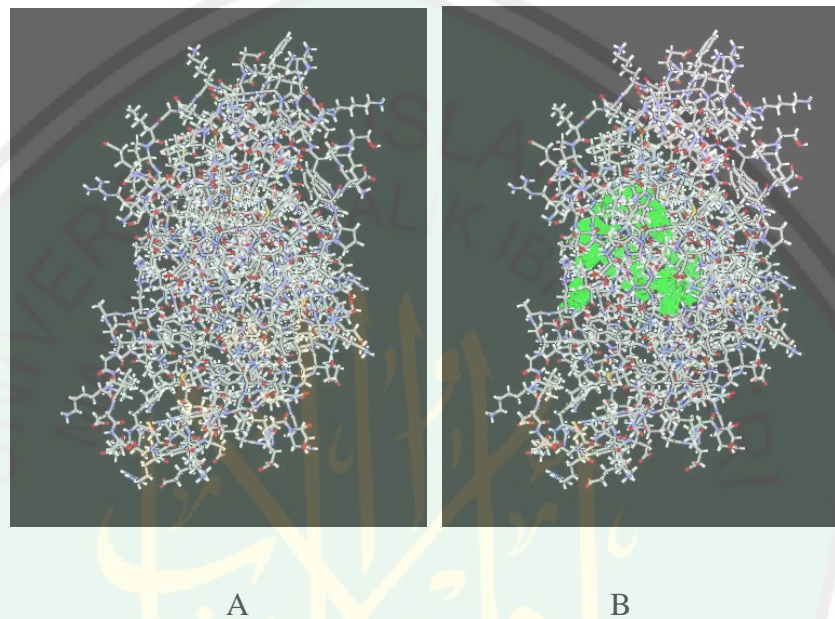
Struktur tiga Dimensi *B-cell lymphoma 2* dengan kode protein (4AQ3) sebagai protein reseptor antikanker serviks yang dapat diunduh dari situs *protein data bank* (PDB) <https://www.rcsb.org/structure/4aq3> (Mala, 2015)



Gambar 4.2 (A) Struktur 3 dimensi *B-cell lymphoma 2* (4AQ3)
(B) Struktur 3 dimensi *B-cell lymphoma 2* (4AQ3) dengan cavity

4.4.2.3 Struktur Tiga Dimensi Reseptor 2RL5

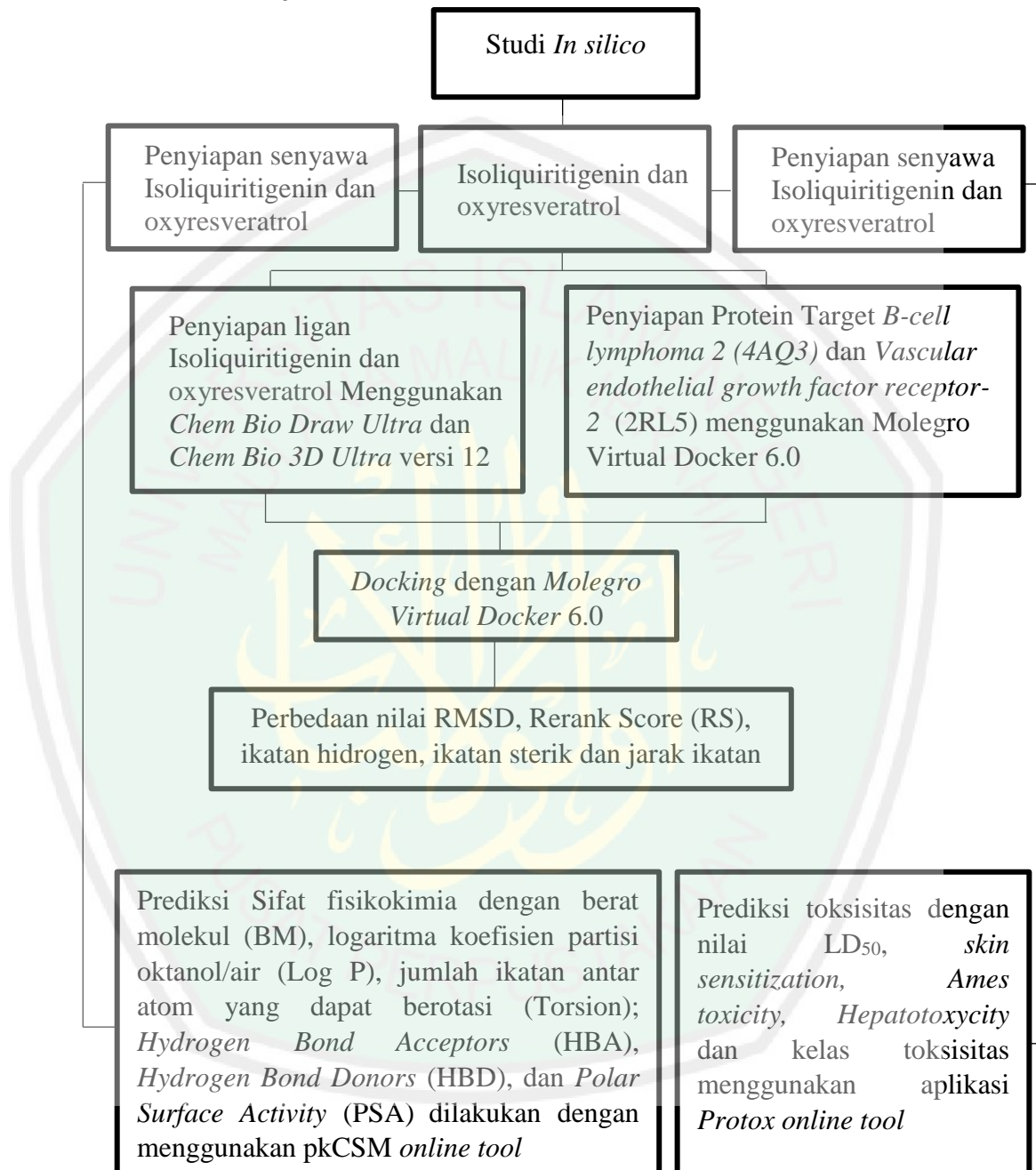
Struktur tiga dimensi *Vascular endothelial growth factor receptor-2* dengan kode protein (2RL5) sebagai protein reseptor antikanker serviks yang dapat diunduh dari situs *protein data bank* (PDB) <https://www.rcsb.org/structure/2rl5>



Gambar 4.3 (A) Struktur 3 dimensi *Vascular endothelial growth factor receptor-2* (2RL5) (B) Struktur 3 dimensi *Vascular endothelial growth factor receptor-2* (2RL5) dengan cavity

4.5 Skema Kerja Penelitian dan Prosedur Penelitian

4.5.1 Skema Kerja Penelitian



Gambar 4.4 Skema kerja penelitian

4.5.2 Prosedur Penelitian

4.5.2.1 Preparasi Ligan

Ligan dipreparasi dengan digambar struktur molekul 2-D dengan program *Chem Bio Draw Ultra* versi 12, kemudian dikopi pada program *Chem Bio 3D Ultra* versi 12 untuk membuat struktur 3-D. Program ini dapat digunakan untuk melihat bentuk stereokimia senyawa dan mengatur bentuk yang paling stabil dari senyawa dengan cara meminimalkan energi, seperti MM2, MM3, MMFF94, OPLS dll. Tetapi yang sering digunakan adalah metode MMFF94. Setelah itu dilakukan minimalisasi energi untuk melihat bentuk stereokimia senyawa dan bentuk yang paling stabil dengan menekan *Calculations* → *MMFF94* → *Perform MMFF94 Minimization*. kemudian disimpan dalam bentuk mol2 {SYBYL2(*.mol2)}. Setelah disimpan kemudian dilakukan proses *docking* terhadap target reseptor.

4.5.2.2 Preparasi Protein Reseptor

Preparasi protein reseptor dilakukan menggunakan *software Molegro Virtual Docker* 6.0. Pada tahap ini dilakukan eliminasi molekul air dan ligan referens serta penambahan atom hidrogen.

4.5.2.3 Penambatan Molecular Docking

Penambatan *Molecular Docking* dilakukan dengan menggunakan *software Molegro Virtual Docker* 6.0 (*Molegro ApS*). Terdapat beberapa langkah dalam proses *docking*, yaitu:

1. Mengunduh reseptor dari situs Protein Data Bank. Reseptor yang diunduh adalah *B-cell lymphoma 2* (4AQ3) harus mengandung ligan phenylacylsulfonamide inhibitor dengan nama IUPAC *N,N-dibutyl-4-*

chloranyl-1-[2-(3,4-dihydro-1H isoquinolin-2-ylcarbonyl) 4 - [(7-iodanyl naphthalen-2-yl) sulfonyl carbamoyl] phenyl]-5-methyl-pyrazole-3 carboxamide dan *Vascular endothelial growth factor receptor-2 (2RL5)* harus mengandung ligan 2,3-dihydro-1,4-benzoxazine inhibitor dengan nama IUPAC *n-(4-chlorophenyl)-7-[(6,7-dimethoxyquinolin-4-yl)oxy]-2,3-dihydro-1,4-benzoxazine-4-carboxamide*

2. Menambahkan atom H pada reseptor (karena reseptor yang diunduh dihilangkan atom H-nya) dan memperbaiki protein reseptor yang diunduh. Hal ini biasanya dilakukan secara otomatis oleh program komputer.
3. Deteksi tempat pada reseptor dimana obat akan terikat (berinteraksi). Tempat tersebut berupa lubang-lubang (*cavities*) pada struktur reseptor.
4. Meletakkan struktur 3D senyawa kedalam lubang terpilih. Ada beberapa cara untuk meletakkan struktur senyawa dalam lubang, dalam program Molegro Virtual Docker dilakukan dengan cara "*align*" yaitu menempelkan tiga atom senyawa ke tiga atom yang sama pada ligan yang ada pada reseptor. Atom yang terpilih umumnya adalah atom-atom pada gugus farmakofor.
5. Melihat gambaran (*view*) letak senyawa dalam lubang reseptor (*cavities*). Ada beberapa gambaran untuk melihat keadaan lingkungan senyawa, antara lain : gambaran hidrofobik, untuk melihat lingkungan hidrofobik senyawa, gambaran elektronik, untuk melihat lingkungan elektronik senyawa, dan gambaran ikatan H senyawa dan reseptor. Asam-asam amino yang terlibat pada proses interaksi obat-reseptor dan gugus-gugus farmakofor dapat dilihat dari gambaran ikatan H senyawa dan reseptor.

6. Melakukan *docking* senyawa pada reseptor, yang dilakukan secara otomatis oleh program Molegro Virtual Docker. Hal yang perlu diperhatikan dalam proses ini adalah pemilihan senyawa yang di *docking* dan *cavity* dimana obat akan berinteraksi. Parameter yang diukur dalam proses *docking* adalah nilai energi yang terlibat, berupa *MolDock Score*, *Rerank Score*, dan *Hbond*. Untuk mengukur kekuatan ikatan obat-reseptor, parameter yang sering digunakan adalah nilai *Rerank Score* (Manual Molegro Virtual Docker, 2013)

4.5.2.4 Prediksi Sifat Fisikokimia dan Toksisitas Senyawa

Prediksi sifat fisikokimia dan toksisitas senyawa dengan digambar struktur molekul 2-D dengan program *Chem Bio Draw Ultra Versi 12*, kemudian dikopi pada program *Chem Bio 3D Ultra Versi 12* untuk membuat struktur 3-D, selanjutnya disimpan dalam bentuk file *.sdf atau *.pdb. Berikutnya, *isoliquiritigenin* dan *oxyresveratrol* dicari code SMILES dengan bantuan situs Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>). Dalam bentuk format *SMILES* inilah senyawa diproses menggunakan *pkCSM online tool* (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/prediction>) untuk memprediksi sifat fisikokimia senyawa dan mendapatkan parameter untuk diklasifikasikan kedalam Hukum Lima Lipinski. Untuk memprediksi toksisitas (LD₅₀) per oral pada *rodent*, klasifikasi toksisitas senyawa berdasarkan *Globally Harmonized System (GHS)* digunakan *Protox online tool* (http://tox.charite.de/protox_II/) dan toksisitas senyawa berdasarkan *skin sensitization*, *Ames toxicity*, *Hepatotoxicity* didapatkan melalui *pkCSM online tool* (Ruswanto dkk., 2017).

4.6 Analisis Data

Analisis data dari hasil *docking* dengan diketahui nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD), *Rerank Score* (RS), ikatan hidrogen, ikatan sterik, jarak ikatan, interaksi dengan asam amino dan dibandingkan aktivitas antara reseptor *B-cell lymphoma 2 (4AQ3)* dan jumlah ikatan antar atom yang dapat berotasi (Torsion), *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), *Hydrogen Bond Donors* (HBD), dan *Polar Surface Activity* (PSA). Sehingga dapat memprediksi sifat fisikokimia dengan senyawa *isoliquiritigenin* dan *oxyresveratrol* dengan terpenuhi hukum lima *Vascular endothelial growth factor receptor-2 (2RL5)* dengan senyawa *isoliquiritigenin* dan *oxyresveratrol*. Analisis data prediksi sifat fisikokimia dengan mengetahui berat molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktanol/air (Log P), lipinski. Analisis data toksisitas senyawa *isoliquiritigenin* dan *oxyresveratrol* dengan dikategorikan berdasarkan nilai LD₅₀ dan ditentukan kelas toksisitasnya, menggunakan *Protox II online tool*. Hasil akan dipaparkan dalam bentuk tabel. Analisis statistik menggunakan aplikasi *SPSS 24.0 for windows* dengan metode analisis ANOVA Uji ini dapat mengetahui senyawa uji lebih baik dibandingkan senyawa pembanding dengan melihat perbedaan nilai rata rata *Rerank Score*.

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan studi *in silico* terhadap senyawa *isoliquiritigenin* dan *oxyresveratrol* yang telah berhasil di temukan dari *Eleutherine palmifolia* (L.) Merr, *Glycyrrhiza uralensis*, *sinofranchetia chinensis*, *Dalbergia odorifera* dan *Glycine max*. Kedua senyawa tersebut telah dilaporkan memiliki aktivitas anti kanker secara *in vitro* (Minggarwati, 2018, Cao *et al.*, 2004; Pan *et al.*, 2000 ; Chan *et al.*, 1998; kape *et al.*, 1992). *Isoliquiritigenin* merupakan senyawa flavonoid turunan khalkon sedangkan *oxyresveratrol* merupakan senyawa polifenol turunan resveratrol (Oldoni *et al.*, 2011 dan sangsen *et al.*, 2018)

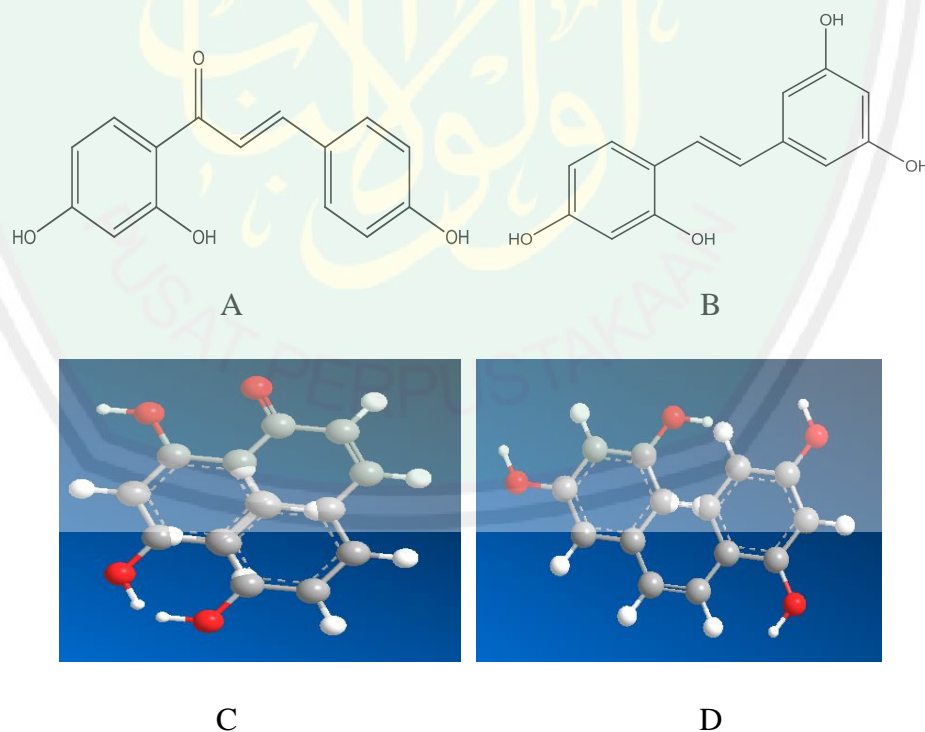
Studi *In silico* yang dilakukan antara lain prediksi absorpsi dengan melihat sifat fisikokimia, prediksi aktivitas dengan dilakukan *docking molecular*, dan juga prediksi toksisitas.

5.1 Pengunduhan Target Protein

Target protein reseptor VEGFR-2 dan reseptor Bcl-2 diunduh melalui situs (<https://www.rcsb.org/>) dengan format *pdb. Pencarian dan pengunduhan reseptor VEGFR-2 dan BCL-2 berdasarkan protein reseptor yang sudah memiliki ligan. Protein reseptor VEGFR-2 dengan code pdb: 2RL5 dan protein reseptor Bcl-2 dengan code pdb : 4AQ3

5.2 Pembuatan Struktur 2 Dimensi, 3 Dimensi, Code SMILES dan Penentuan Energi Minimal

Sebelum dilakukan uji *in silico*, senyawa *isoliquiritigenin* dengan nama IUPAC ((2*E*)-1-(2,4-Dihydroxyphenyl)-3-(4-hydroxyphenyl)-2-propen-1-on) dan *oxyresveratrol* dengan nama IUPAC (4-[(*E*)-2-(3,5-Dihydroxyphenyl)vinyl]-1,3-benzenediol) digambar terlebih dahulu menggunakan program ChemBioDraw Ultra 12.0. Setelah itu gambar dua dimensi digunakan untuk membuat struktur senyawa secara tiga dimensi hal ini dikarenakan pada semua tahap *docking* harus menggunakan model struktur tiga dimensi. Untuk menggambar struktur tiga dimensi digunakan program ChemBio 3D ultra 12.00. Hasil struktur dua dimensi dan tiga dimensi ditunjukkan pada gambar 5.1

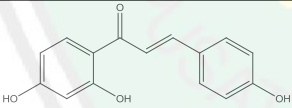
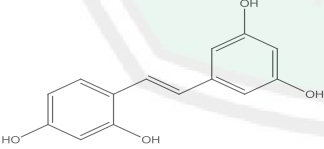


Gambar 5.1 Struktur dua dimensi *isoliquiritigenin* (A). Struktur dua dimensi senyawa *oxyresveratrol* (B). Struktur tiga dimensi senyawa *isoliquiritigenin* (C). Struktur tiga dimensi senyawa *oxyresveratrol* (D).

Dari gambar 5.1 A dan B didapatkan struktur dua dimensi dari *isoliquiritigenin* dan juga *oxyresveratrol*. Lalu didapatkan struktur dalam bentuk tiga dimensi dari *isoliquiritigenin* dan *oxyresveratrol* (C dan D). Struktur tiga dimensi selanjutnya akan dilakukan minimalisasi energi.

Penentuan energi minimal menggunakan program ChemBio3D ultra 12.00 dilakukan tiga kali replikasi dengan metode MMFF94. Dengan dilakukan minimalisasi energi menggunakan metode MMFF94 akan dihasilkan bentuk stereokimia yang paling stabil dan disimpan dalam bentuk *.mol2. Penentuan energi minimal digunakan untuk menentukan energi seminimal mungkin pada bentuk stereokimia dan bentuk yang paling stabil untuk dilakukan *docking* dengan reseptor target. Hasil penentuan energi minimal ditunjukkan pada tabel 5.1.

Tabel 5.1 Hasil penentuan energi minimal (kkal/mol) senyawa *oxyresveratrol* dan *isoliquiritigenin* dengan MMFF94

Senyawa	Energi Minimal (Kkal/mol)			Rerata (kkal/mol)
	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	
 <i>Isoliquiritigenin</i>	43.7544	43.7543	43.7542	43.7543
 <i>Oxyresveratrol</i>	6.93964	6.93928	6.939	6.93930

Keterangan nama senyawa (IUPAC):

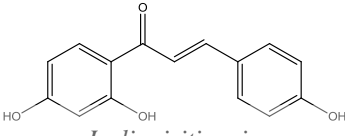
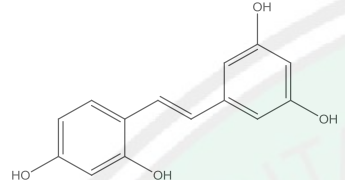
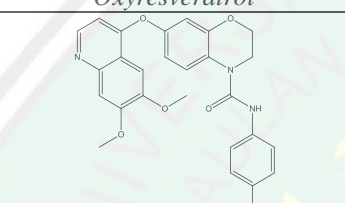
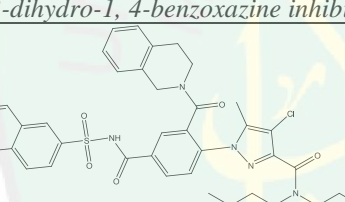
Isoliquiritigenin : ((2*E*)-1-(2,4-Dihydroxyphenyl)-3-(4-hydroxyphenyl)-2-propen-1-on)

Oxyresveratrol : (4-[(*E*)-2-(3,5-Dihydroxyphenyl)vinyl]-1,3-benzenediol)

Rerata energi minimal yang didapatkan pada senyawa *isoliquiritigenin* adalah sebesar 43,7543 kkal/mol dan pada *oxyresveratrol* adalah sebesar 6,93930 kkal/mol. Energi tersebut merupakan rerata energi seminimal mungkin pada bentuk stereokimia dan bentuk yang paling stabil untuk dilakukan *docking*.

Sebelum dilakukan prediksi sifat fisikokimia dan toksisitas dilakukan pembuatan Code SMILES. Pembuatan Code SMILES yang digunakan didapatkan dari situs PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>). Code SMILES dari senyawa uji didapatkan dengan mencari database dari situs PubChem setelah didapatkan disimpan code SMILES untuk dilakukan uji selanjutnya. Code SMILES dari Senyawa pembanding didapatkan dari senyawa yang berperan sebagai inhibitor pada reseptor VEGFR-2 (2RL5) dan BCL-2 (4AQ3). Senyawa pembanding dari kedua reseptor tersebut adalah *2,3-dihydro-1,4-benzoxazine inhibitor* dengan nama IUPAC *N-(4-Chlorophenyl)-7-[(6,7 -Dimethoxyquinolin - 4-Yl)oxy]-2,3-Dihydro-1,4-Benzoxazine-4-Carboxamide* dan *Phenylacylsulfonamide inhibitor* dengan nama IUPAC *N,N-dibutyl-4-chloro-1-[2-(3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carbonyl)-4-[(7-iodonaphthalen-2-yl) sulfonylcarbamoyl]phenyl]-5-methylpyrazole-3-carboxamide*. Hasil Code SMILES ditunjukkan pada tabel 5.2

Tabel 5.2 Hasil code SMILES *isoliquiritigenin*, *oxyresveratrol*, *2,3-dihydro-1, 4-benzoxazine inhibitor* dan *Phenylacylsulfonamide inhibitor*

Nama Senyawa	Code SMILES
 <p><i>Isoliquiritigenin</i></p>	<chem>C1=CC(=CC=C1/C=C/C(=O)C2=C(C=C(C=C2)O)O)O</chem>
 <p><i>Oxyresveratrol</i></p>	<chem>C1=CC(=C(C=C1O)O)/C=C/C2=CC(=CC(=C2)O)O</chem>
 <p><i>2,3-dihydro-1, 4-benzoxazine inhibitor</i></p>	<chem>COC1=CC2=C(C=CN=C2C=C1OC)OC3=CC4=C(C=C3)N(CCO4)C(=O)NC5=CC=C(C=C5)Cl</chem>
 <p><i>Phenylacylsulfonamide inhibitor</i></p>	<chem>CCCCN(CCCC)C(=O)C1=NN(C(=C1Cl)C)C2=C(C=C(C=C2)C(=O)NS(=O)(=O)C3=CC4=C(C=C3)C=CC(=C4)I)C(=O)N5CCC6=CC=CC=C6C5</chem>

Keterangan: Nama Senyawa (IUPAC)

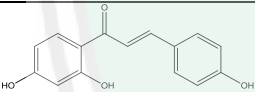
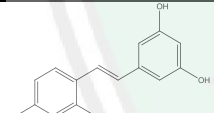
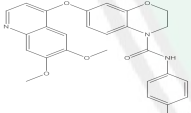
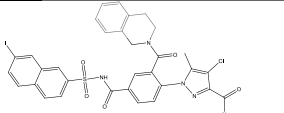
<i>Isoliquiritigenin</i>	:((2 <i>E</i>)-1-(2,4-Dihydroxyphenyl)-3-(4-hydroxyphenyl)-2-propen-1-on)
<i>Oxyresveratrol</i>	:(4-[(<i>E</i>)-2-(3,5-Dihydroxyphenyl)vinyl]-1,3-benzenediol)
<i>2,3-dihydro-1, 4-benzoxazine inhibitor</i>	: <i>N</i> -(4-Chlorophenyl)-7-[6,7-Dimethoxyquinolin-4-yl]oxy]-2,3-Dihydro-1,4-Benzoxazine-4-Carboxamide
<i>Phenylacylsulfonamide inhibitor</i>	: <i>N,N</i> -dibutyl-4-chloro-1-[2-(3,4-dihydro-1 <i>H</i> -isoquinoline-2-carbonyl)-4-[(7-iodonaphthalen-2-yl)sulfonylcarbonyl]phenyl]-5-methylpyrazole-3-carboxamide

Dari tabel 5.2 diatas didapatkan Code SMILES yang akan digunakan untuk prediksi fisikokimia dan toksisitas. Code SMILES tersebut yang selanjutnya akan digunakan pada aplikasi *Protox Online tool* dan *pkCSM online tool*.

5.3 Prediksi sifat fisikokimia dan ADME

Prediksi absorpsi dan permeabilitas ini didasarkan dengan hukum lima Lipinski dan membutuhkan beberapa parameter fisikokimia. Parameter fisikokimia yang dibutuh adalah Log P, Berat Molekul, jumlah ikatan antar atom yang dapat berotasi (Torsion), *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), *Hydrogen Bond Donors* (HBD) dan *Polar Surface Activity* (PSA) dengan memasukkan code SMILES pada aplikasi *pkCSM Online tool*. Hasil prediksi sifat fisikokimia ditunjukkan pada tabel 5.3.

Tabel 5.3 Hasil penentuan sifat fisikokimia dan penerapan hukum lima Lipinski terhadap senyawa *isoliquiritigenin*, *oxyresveratrol*, *2,3-dihydro-1, 4-benzoxazine inhibitor* dan *Phenylacylsulfonamide inhibitor*

Senyawa	Parameter Hukum Lima Lipinski						Penerapan Hukum Lima Lipinski
	BM	LogP	Torsion	HBD	HBA	PSA (A ²)	
 <i>Isoliquiritigenin</i>	256.257	2.6995	3	3	4	109.438	Ya
 <i>Oxyresveratrol</i>	244.246	2.6794	2	4	4	103.706	Ya
 <i>2,3-dihydro-1, 4-benzoxazine inhibitor</i>	491,931	6,1286	5	1	6	206,494	Tidak
 <i>Phenylacylsulfonamide inhibitor</i>	866,222	7,9515	12	1	7	328,240	Tidak

Keterangan:

BM : Berat Molekul <500

Log P : Koefisien Partisi <5

Torsion : Ikatan H yang dapat berotasi

Σ HBD : Jumlah atom OH dan NH <5

Σ HBO : Jumlah atom O dan N <10

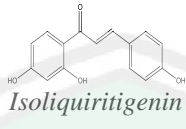
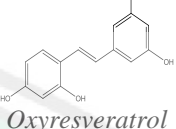
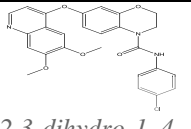
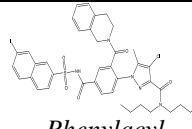
PSA : *Polar Surface Activity*

Menurut Lipinski *et al* (1997) senyawa akan sulit diabsorpsi dan permeabilitasnya rendah apabila mempunyai: berat molekulnya lebih besar dari 500, nilai log koefisien partisi oktanol/air (log P) lebih besar dari +5; *Hydrogen Bond Donors* (HBD), yang dinyatakan dengan jumlah gugus O-H dan N-H, lebih besar dari 5; dan *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), yang dinyatakan dengan jumlah atom O dan N, lebih besar dari 10.

Dari tabel 5.3 diatas senyawa *isoliquiritigenin* dan *oxyresveratrol* memiliki berat molekul kurang dari 500, log P kurang dari 5, Jumlah ikatan H donor kurang dari 5 dan ikatan H aseptor kurang dari 10. Sehingga senyawa *isoliquiritigenin* dan *oxyresveratrol* memenuhi hukum lima Lipinski dan dapat diprediksi bawah senyawa tersebut mudah untuk diabsorbsi dan memiliki permeabilitas yang baik. Dilakukan juga prediksi sifat fisikokimia terhadap senyawa pada reseptor asli yaitu *2,3-dihydro-1, 4-benzoxazine inhibitor* dan *Phenylacylsulfonamide inhibitor* didapatkan kedua ligan tersebut tidak dapat memenuhi Hukum Lima Lipinski. Sehingga tidak dapat diabsorbsi dengan baik dan memiliki permeabilitas yang tidak baik

Langkah selanjutnya adalah prediksi absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi dengan memasukkan code SMILES dari Senyawa *isoliquiritigenin*, *oxyresveratrol*, *2,3-dihydro-1, 4-benzoxazine inhibitor* dan *Phenylacylsulfonamide inhibitor* pada aplikasi *pkCSM online tool*. Hasil prediksi absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi ditunjukkan pada tabel 5.4.

Tabel 5.4 Hasil prediksi ADME senyawa *isoliquiritigenin*, *oxyresveratrol*, *2,3-dihydro-1, 4-benzoxazine inhibitor* dan *Phenylacetyl sulfonamide inhibitor* Menggunakan *PkCSM Online Tool*

Kategori Prediksi		Hasil			
		 <i>Isoliquiritigenin</i>	 <i>Oxyresveratrol</i>	 <i>2,3-dihydro-1, 4-benzoxazine inhibitor</i>	 <i>Phenylacetyl sulfonamide inhibitor</i>
Absorpsi	Absorpsi pada usus (%)	91,096	87,586	92,086	96,021
	Permeabilitas pada kulit (Log Kp)	-2,752	-2,783	-2,736	-2,735
	Permeabilitas Caco-2 (Log Ppap in 10 ⁻⁶ cm/s)	0,955	1,005	0,992	1,082
	P-glycoprotein substrate	Iya	Iya	Tidak	Tidak
	P-glycoprotein I inhibitor	Tidak	Tidak	Iya	Iya
	P-glycoprotein II inhibitor	Tidak	Tidak	Iya	Iya
Distribusi	Vdss (Log L/kg)	0,485	-0,024	-0,433	-1,158
	Permeabilitas BBB (Log BB)	-0,717	-0,899	-1,093	-1,567
	Permeabilitas CNS (Log PS)	-2,205	-2,304	-2,789	-2,961
Metabolisme	CYP2D6 substrate	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
	CYP3A4 substrate	Tidak	Iya	Iya	Iya
	CYP1A2 inhibitor	Iya	Iya	Tidak	Tidak
	CYP2C19 inhibitor	Iya	Iya	Iya	Iya
	CYP2C9 inhibitor	Tidak	Tidak	Iya	Iya
	CYP2D6 inhibitor	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
	CYP3A4 inhibitor	Tidak	Tidak	Iya	Iya
Eksresi	Total Clearance (Log mg/kg/hari)	0,087	0,195	0,36	-0,381
	Renal OCT2 substrate	Tidak	Tidak	Tidak	Iya

Keterangan :

Vdss : (*Volume of Distribution at Steady State*)

BBB : (*Blood Brain Barrier*)

CNS : (*Central Nervous System*)

CYP2D6 : Sitokrom P2D

CYP3A4 : Sitokrom 3A4

CYP1A2 : Sitokrom 1A2

CYP2C19 : Sitokrom 2C19

CYP2C9 : Sitokrom 2C9

Renal OCT2 : *Renal Organic Cation Transporter 2*

Pada tabel 5.4 yaitu prediksi ADME menggunakan *pkCSM online tool* didapat bahwa absorpsi dari kedua senyawa uji dan kedua senyawa pembanding memiliki nilai % absorpsi pada usus antara 87,586 hingga 96,021 sehingga dapat diprediksi memiliki absorpsi yang baik. Absorpsi yang baik menurut Chander *et al* (2017) apabila memiliki nilai absorpsi > 80% dan absorpsinya kurang baik jika < 30%.

Parameter Permeabilitas kulit sangat penting dalam penghantaran obat. Menurut Pires *et al* (2015) senyawa memiliki permeabilitas yang rendah jika mempunyai nilai $\text{Log Kp} > -2.5$. Dari keempat senyawa yang terdapat pada penelitian ini memiliki nilai Log Kp antara -2,735 hingga -2,783.

Permeabilitas sel lapis tunggal Caco2 (Caco2 cell monolayer permeability) biasanya sering digunakan sebagai model invitro dari mukosa usus sehingga dapat memprediksi penyerapan obat yang diberikan secara oral. Menurut Pires *et al* (2015) senyawa dianggap memiliki permeabilitas Caco-2 yang tinggi jika $P_{\text{app}} > 8 \times 10^6 \text{ cm} / \text{s}$. Namun pada prediksi menggunakan *pkCSM tool* permeabilitas akan diterjemahkan kedalam nilai $\text{log P}_{\text{app}}$ dengan dinyatakan tinggi bila memiliki nilai > 0.90 Pada penelitian ini kesemua senyawa dapat diprediksi memiliki permeabilitas Caco-2 yang tinggi. P-glikoprotein (P-gp) merupakan protein yang membentuk membran, berfungsi untuk memompa transmembran efluks (Mealey *et al*, 2010). P-gp akan menangkap obat lipofilik saat obat tersebut akan melakukan perjalanan melalui lipid bilayer dan membalik molekul dari dalam ke luar dan akhirnya sampai ke matriks ekstraselular. (Chakraborty and Ramakrishnan, 2016).

Pada tabel 5.4 senyawa *isoliquiritigenin* dan *oxyresveratrol* menyatakan iya yang artinya senyawa tersebut akan melewati diabsorpsi melalui P-glikoprotein namun tidak pada P-glikoprotein I dan II inhibitor. Pada kedua senyawa pembanding berkebalikan yaitu tidak diabsorpsi melalui P-glikoprotein namun diabsorpsi pada P-glikoprotein I dan II inhibitor

Prediksi Distribusi menggunakan pkCSM tool diprediksi V_{dss} , BBB, dan CNS. Volume Distribusi at Steady State (VDSS) adalah volume teoritis bahwa dosis total obat perlu didistribusikan secara merata untuk memberikan konsentrasi yang sama seperti pada plasma darah. Semakin tinggi nilai VDSS, semakin banyak kandungan obat yang didistribusikan ke di jaringan dari pada plasma. Pires *et al* (2015) menyatakan senyawa dikatakan mempunyai Volume Distribusi rendah bila nilai Log VDSS $< -0,15$, dan tinggi bila $> 0,45$. Dari tabel 5.4 nilai Log VDSS yang didapat adalah antara $-0,024$ hingga $0,485$. Yang memiliki VDSS rendah adalah kedua senyawa pembanding sedangkan senyawa uji dapat didistribusikan secara merata untuk memberikan konsentrasi yang sama seperti pada plasma darah.

BBB (Blood Brain Barrier) merupakan kemampuan suatu obat untuk menembus sawar darah otak. Hal ini dapat membantu untuk mengurangi efek samping dan toksisitas ataupun dapat meningkatkan khasiat obat yang memiliki tujuan pengobatan didalam otak. Menurut Pires *et al* (2015) senyawa dikatakan mampu menembus sawar otak jika memiliki $\log_{BB} > 0,3$ dan tidak terdistribusi dengan baik bila $\log_{BB} < -1$. Pada tabel 5.4 didapatkan nilai LogBB antara $-1,567$ hingga $-0,899$. Keempat senyawa tidak memiliki kemampuan yang baik dalam menembus sawar otak karena LogBB tidak ada yang $> 0,3$.

Permeabilitas Central Nervous System (CNS) merupakan kemampuan suatu obat untuk menembus sistem saraf pusat. Hal ini juga penting untuk mengurangi efek samping dan toksisitas ataupun dapat meningkatkan khasiat obat yang memiliki tujuan pengobatan pada sistem saraf pusat. Menurut Pires *et al* (2015) senyawa dikatakan LogPS >-2 dianggap dapat menembus CNS sedangkan logPS <-3 dianggap tidak dapat menembus CNS. Pada tabel 5.4 didapatkan nilai LogPS antara -2,961 hingga -2,205. Keempat senyawa memiliki LogPS < -3 sehingga tidak dapat menembus CNS.

Proses metabolisme adalah suatu proses kimiawi dimana obat akan diubah didalam tubuh membentuk suatu metabolitnya. Organ yang bertanggung jawab adalah hati. Sitokrom P450 merupakan enzim detoksifikasi yang banyak ditemukan didalam hati. Enzim CYP2D6 merupakan salah satu enzim yang berperan dalam metabolisme beberapa obat. Substrat CYP3A4 adalah Sitokrom P450 3A4 (disingkat CYP3A4), yang berartisitokrom P450, famili 3, subfamili A, polipeptida 4. Enzim yang penting setelah obat beredar. Sedangkan inhibitor CYP1A2 merupakan inhibitor dari CYP1A2. CYP2C19 bertanggung jawab untuk metabolisme berbagai obat, termasuk inhibitor pompa proton (PPI), Sehingga CYP2C19 inhibitor merupakan inhibitor dari enzim CYP2C19. Enzim CYP2C9 terlibat dalam metabolisme 10 % obat, sedangkan enzim CYP2C19 terlibat dalam metabolisme 20% obat, CYP2C9 inhibitor merupakan inhibitor dari enzim CYP2C9. CYP2D6 inhibitor juga merupakan inhibitor dari enzim CYP2D6 dan inhibitor CYP3A4 merupakan inhibitor dari enzim CYP3A4.

Pada tabel 5.4 didapatkan bahwa senyawa Isoliquiritigenin hanya akan dimetabolisme pada CYP1A2 inhibitor dan CYP2C19 inhibitor. Sedangkan Oxyresveratrol akan dimetabolisme pada CYP1A2 inhibitor, CYP2C19 inhibitor dan CYP3A4 substrate. Lalu kedua senyawa *2,3-dihydro-1, 4-benzoxazine inhibitor* dan *Phenylacetylsulfonamide inhibitor* akan dimetabolisme oleh CYP3A4 substrate, CYP2C19 inhibitor, CYP2C9 inhibitor dan CYP3A4 inhibitor.

Untuk memprediksi proses ekskresi senyawa dapat dilakukan dengan mengukur tetapan *Total Clearance* (CLTOT) dan *Renal Organic Cation Transporter 2* (OCT2) substrate. CLTOT merupakan kombinasi dari *hepatic clearance* (metabolisme di hati dan empedu) dan *renal clearance* (ekskresi melalui ginjal). Hal ini berkaitan dengan bioavailabilitas, dan penting untuk menentukan tingkat dosis untuk mencapai konsentrasi steady-state. Dari tabel 5.4 didapat nilai - 0,381 hingga 0,36 log mg/kg/hari.

Organic Cation Transporter 2 adalah transporter pada ginjal yang memegang peran penting dalam disposisi dan clearance obat-obatan dan senyawa endogen. interaksi sampingan bila diberikan bersama-sama dengan inhibitor OCT2 interaksi sampingan bila diberikan bersama-sama dengan inhibitor OCT2. Hasil yang didapatkan hanya terdapat pada senyawa *Phenylacetylsulfonamide inhibitor* yang berikatan pada substrat renal OCT-2.

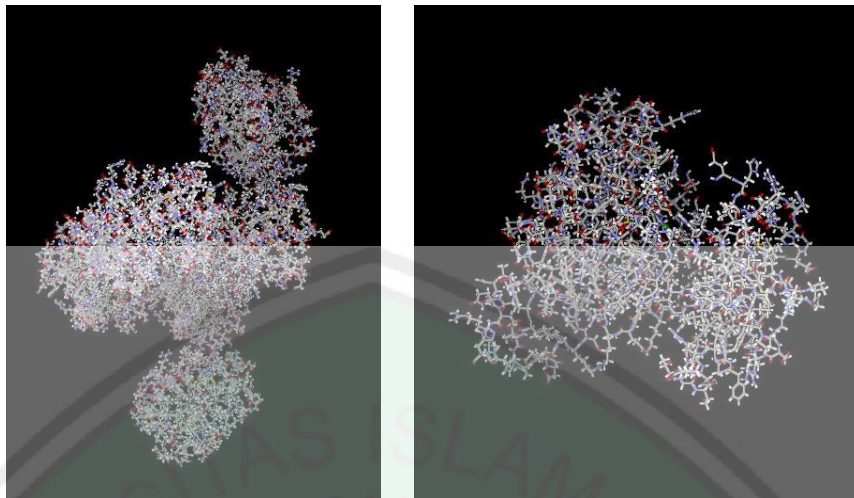
5.4 Hasil *Docking* dan Analisis Asam Amino

Studi *In silico* selanjutnya adalah *docking molecular* yaitu mengetahui interaksi senyawa *isoliquiritigenin* dan *oxyresveratrol* dengan protein reseptor. Interaksi ligan (senyawa) dengan reseptor dapat divisualisasikan dengan metode komputasi dan dapat digunakan untuk mengetahui farmakofor dari suatu senyawa (Ekins *et al.*, 2007).

Reseptor yang digunakan adalah reseptor yang dapat mempengaruhi pertumbuhan sel kanker melalui jalur anti-apoptosis yaitu protein reseptor 4AQ3 dan jalur pensinyalan sebagai jalur proangiogenik pada tahap angiogenesis yaitu protein reseptor 2RL5. Dilakukan simulai *Docking* menggunakan program *Molegro Virtual Docker* (MVD) 6.0. Sebelum dilakukan simulasi *Docking* dilakukan terlebih dahulu preparasi Protein target dari 2

5.4.1 Hasil Preparasi Protein 4AQ3 dan 2RL5

Preparasi protein mula mula diunduh dari data file PDB (*Protein Data Bank*) melalui (www.rcsb.org). Protein yang diunduh adalah protein BCL-2 dengan kode: 4AQ3 dan VEGFR-2 dengan kode: 2RL5 dengan masing masing protein memiliki native ligan inhibitorynya yaitu pada 4AQ3 memiliki native ligan *2,3-dihydro-1,4-benzoxazine inhibitor* dan pada 2RL5 memiliki native ligan *Phenylacylsulfonamide inhibitor*. Protein tersebut ditinjau menggunakan program *Molegro Virtual Docker* (MVD) (Gambar 5.2).

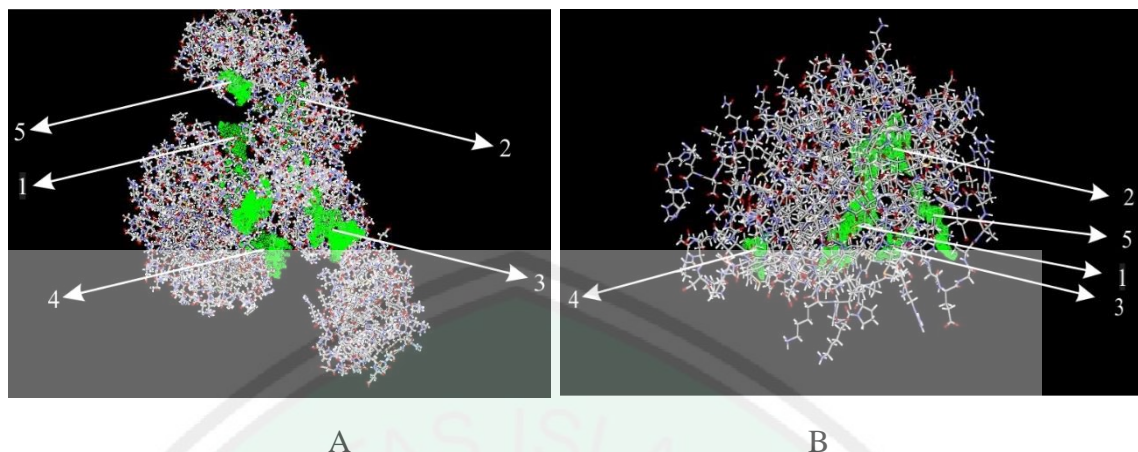


A B
Gambar 5.2 (A) Reseptor 4AQ3 dan (B) reseptor 2RL5

Program MVD akan secara otomatis mengkoreksi protein yang telah ada dan secara langsung melakukan penambahan atom H dan mengkoreksi apabila ada beberapa asam amino residu yang salah baik valensi maupun muatannya

5.4.2 Hasil Penentuan Lubang (*Cavity*)

Hasil penentuan lubang (*cavity*) digunakan untuk mendeteksi tempat berinteraksi antara ligan dan reseptor (*cavity*) pada reseptor 4AQ3 dan 2RL5. *Cavity* yang terdapat pada reseptor ditunjukkan dengan warna hijau. Hasil penentuan *cavity* ditunjukkan pada gambar 5.3.



Gambar 5.3 Hasil deteksi lubang (cavity) pada (A) reseptor 4AQ3 dan (B) (2RL5)

Keterangan :

(A)	(B)
<i>Cavity 1 Vol=936,448 Surface 2732.8</i>	<i>Cavity 1 Vol=107,52 Surface 304,64</i>
<i>Cavity 2 Vol= 416.256 Surface 1436.15</i>	<i>Cavity yang digunakan</i>
<i>Cavity yang digunakan</i>	<i>Cavity 2 Vol= 95.744 Surface 290,56</i>
<i>Cavity 3 Vol= 394.726 Surface 1338.88</i>	<i>Cavity 3 Vol= 34,304 Surface 122,88</i>
<i>Cavity 4 Vol= 297.472 Surface 995.84</i>	<i>Cavity 4 Vol= 32,256 Surface 122.88</i>
<i>Cavity 5 Vol=99.328 surface 250.73</i>	<i>Cavity 5 Vol=31,232 surfaace 134,3</i>

Lubang yang digunakan pada gambar 5.3 (A) adalah lubang yang dimungkinkan memiliki interaksi pada reseptor 4AQ3. Lubang yang digunakan adalah lubang pada volume 416.256 dengan luas permukaan 1436.15 (Cavity 2). Lubang tersebut digunakan karena merupakan lubang dengan area dimana *native ligan* reseptor 4AQ3 berinteraksi dengan asam amino residu spesifik. Tempat *native ligan* yang berikatan memiliki potensial sebagai lubang aktif reseptor. Lubang yang digunakan pada gambar 5.3 (B) adalah lubang yang dimungkinkan memiliki interaksi pada reseptor 2RL5. Lubang yang digunakan adalah lubang pada volume 107,52 dan luas permukaan 304,64 (Cavity 1). Lubang tersebut digunakan karena merupakan lubang dengan area dimana *native ligan* reseptor 2RL5 berinteraksi dengan asam amino residu spesifik. Tempat *native ligan* yang berikatan memiliki

potensial sebagai lubang aktif reseptor. Setelah dilakukan pemilihan lubang (cavity) yang digunakan kemudian dilakukan validasi pada reseptor.

5.4.3 Pengaturan *Molegro Virtual Docking*

Sebelum dilakukan validasi dan juga *docking* menggunakan program *Molegro Virtual Docker* (MVD), terlebih dahulu dilakukan pengaturan parameter – parameter pada program. Berikut pengaturan dari program *Molegro Virtual Docker*:

- *Scoring Function*
 - Score* : MolDock Score [GRID]
 - Grid resolution (Å)* : 0.30
 - Ligand evaluation* : Internal ES, Internal Hbond, Sp2-Sp2 Torsion
- *Search Alogarithm*
 - Alogarithm* : MolDock SE
 - Number of runs* : 10
 - After docking* : Energy minimization, Optimize hydrogen bonds
- *Parameter Setting*
 - Max iterations* : 1500
 - Max population size* : 50
 - Max steps* : 300

5.4.4 Hasil Validasi Reseptor 4AQ3 dan 2RL5

Validasi dilakukan dengan mendockingkan ulang native ligan pada lubang reseptor. Hasil validasi ditunjukkan dengan nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD). Reseptor dinyatakan valid dan dapat dilakukan simulasi *docking* selanjutnya jika memiliki nilai $RMSD \leq 2$ (Hevener *et al.*, 2009). Hasil validasi reseptor ditunjukkan pada tabel 5.5.

Tabel 5.5 Hasil validasi dan nilai RMSD

Reseptor	2RL5	4AQ3 (A)	4AQ3 (B)	4AQ3 (C)	4AQ3 (D)	4AQ3 (E)	4AQ3 (F)
Nilai RMSD	1.18875	4.43089	11.3424	2.76257	10.8581	0.780526	3.42542

Berdasarkan tabel 5.5 Reseptor 2RL5 memiliki nilai RMSD 1.18875 yang menunjukkan valid untuk dilakukan simulasi *docking*. Reseptor 4AQ3 memiliki 6 protein yang berbeda diantaranya yaitu 4AQ3 (A), 4AQ3 (B), 4AQ3 (C), 4AQ3 (D), 4AQ3 (E), 4AQ3 (F). Nilai RMSD yang didapatkan secara berurut-urut yaitu 4.43089, 11.3424, 2.76257, 10.8581, 0.780526, 3.42542. Protein 4AQ3 (E) merupakan protein yang digunakan untuk proses *docking* karena memiliki nilai RMSD paling rendah yaitu 0.780526.

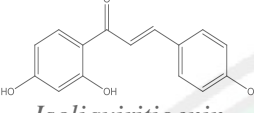
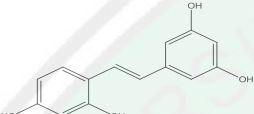
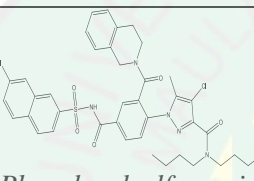
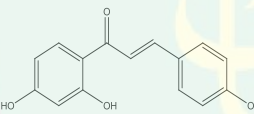
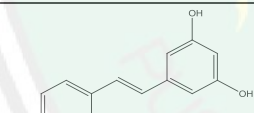
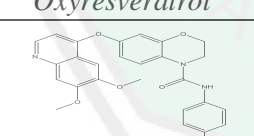
5.4.5 Hasil Perolehan *Docking Score*

Hasil *Simulasi Docking* dapat dilihat dari rerata nilai *Scoring* yang didapatkan. Digunakan tiga paramater yaitu *MolDock Score*, *Rerank Score*, dan Ikatan H nya. Nilai *MolDock Score*, *Rerank Score*, dan Ikatan H merupakan score yang dapat mengukur kekuatan ikatan obat-reseptor (CLCbio, 2013). Energi ikatan juga dapat digunakan sebagai prediksi aktivitas senyawa. Energi ikatan antara ligan dan reseptor dapat dilihat melalui *Rerank Score*. *Rerank Score* atau energi ikatan merupakan perhitungan total dari semua ikatan yang ada. Energi ikatan menyatakan jumlah energi yang diperlukan untuk mengadakan interaksi antara ligan dengan reseptor (Nugroho, 2014).

5.4.5.1 Hasil *Docking* Senyawa *Isoliquiritigenin*, *Oxyresveratrol*, *2,3-dihydro-1,4-benzoxazine inhibitor*, dan *Phenylacylsulfonamide inhibitor* terhadap Reseptor 4AQ3 (E) dan 2RL5

Hasil *docking score* yang diperoleh dari simulasi *docking* pada ligan *isoliquiritigenin* dan *oxyresveratrol* terhadap reseptor 4AQ3 dan reseptor 2RL5 menggunakan program *Molegro Virtual Docker* ditunjukkan pada tabel 5.6

Tabel 5.6 Hasil *Docking score* ligan *Isoliquiritigenin*, *Oxyresveratrol*, *2,3-dihydro-1, 4-benzoxazine inhibitor*, *Phenylacylsulfonamide inhibitor* terhadap reseptor 2RL5 dan 4AQ3

Reseptor	Senyawa	Parameter Score	Replikasi			Rerata (Kkal/mol)
			Replikasi 1 (Kkal/mol)	Replikasi 2 (Kkal/mol)	Replikasi 3 (Kkal/mol)	
4AQ3 (E)	 <i>Isoliquiritigenin</i>	<i>MolDock Score</i>	-96.6959	-106.417	-100.42	-101,1776
		<i>Rerank Score</i>	-79.7617	-77.0265	-78.7242	-78,5041
		H-Bond	-8.30801	-8.29205	-10.5209	-9,0403
	 <i>Oxyresveratrol</i>	<i>MolDock Score</i>	-107.964	-107.939	-107.917	-107,9400
		<i>Rerank Score</i>	-87.9563	-88.0106	-88.0286	-87,9985
		H-Bond	-8.25896	-8.22368	-8.21736	-8,2333
	 <i>Phenylacylsulfonamide inhibitor</i>	<i>MolDock Score</i>	-200.355	-171.693	-165.115	-179.054
		<i>Rerank Score</i>	-135.892	-115.139	-118.493	-123.174
		H-Bond	-5.26117	-4.08316	0	-3.11478
2RL5	 <i>Isoliquiritigenin</i>	<i>MolDock Score</i>	-91.1539	-88.2189	-92.0561	-90,4763
		<i>Rerank Score</i>	-70.7507	-64.1086	-69.2253	-68,0282
		H-Bond	-3.80325	-457504	-375228	-4,04352
	 <i>Oxyresveratrol</i>	<i>MolDock Score</i>	-94.3106	-90.8578	-94.3028	-93,1571
		<i>Rerank Score</i>	-73.0513	-73.0345	-73.0381	-73,0413
		H-Bond	-7.05411	-7.5	-7.07712	-7,21041
	 <i>2,3-dihydro-1, 4-benzoxazine inhibitor</i>	<i>MolDock Score</i>	-154.291	-153.804	-154.621	-154,239
		<i>Rerank Score</i>	-121.293	-125.501	-125.2	-123,998
		H-Bond	-3.01498	-3.2121	-3.31987	-3,18232

Keterangan :

MolDock Score :turunan dari fungsi scoring PLP dengan ikatan hidrogen dan skema yang baru. (Kkal/mol)

Rerank Score :kombinasi linier dari E-inter (Van der Waals, *steric*, ikatan hidrogen, elektrostatik) dengan ligan dan protein dari E-intra (Van der Waals, ikatan hidrogen, *torison*, sp2-sp2, elektrostatik) dari ligan yang telah ditentukan (Kkal/mol)

H-bond :energi ikatan hidrogen (Kkal/mol)

Dari tabel 5.6 rerata nilai yang digunakan yaitu *MolDock Score*, *Rerank Score*, dan Ikatan H. Pada reseptor BCL-2 (4AQ3) nilai *MolDock Score*, *Rerank Score* dan ikatan H untuk senyawa *isoliquiritigenin* adalah -101,1776, -78,5041, -9,0403. Nilai *MolDock Score*, *Rerank Score* dan ikatan H untuk senyawa *oxyresveratrol* adalah -107,9400, -87,9985 -8,2333 Kkal/mol. Nilai *MolDock Score*, *Rerank Score* dan ikatan H untuk senyawa *Phenylacylsulfonamide inhibitor* adalah sebesar -179.054, -123.174, -3.11478 Kkal/mol. Pada reseptor VEGFR-2 (2RL5) nilai *MolDock Score*, *Rerank Score* dan ikatan H untuk senyawa *isoliquiritigenin* secara berturut-turut: -90,4763, -68,0282 -4,04352 Kkal/mol. Nilai *MolDock Score*, *Rerank Score* dan ikatan H untuk senyawa *oxyresveratrol* secara berturut-turut: -93,1571, -73,0413, -7,21041 Kkal/mol. Nilai *MolDock Score*, *Rerank Score* dan ikatan H untuk *2,3-dihydro-1, 4-benzoxazine inhibitor* adalah sebesar -154,239, -123,998, -3,18232 Kkal/mol.

5.4.5.2 Hasil Penentuan Energi Ikatan

Energi ikatan antara ligan dan reseptor ditunjukkan dengan nilai *Rerank Score* yang telah didapat dari simulasi *docking* yang telah dilakukan. Nilai *Rerank Score* yang dipatikan dapat digunakan untuk mengevaluasi kualitas *docking*, mencari konformasi ligan yang relevan dengan melihat nilai terendah, dapat juga digunakan untuk menggolongkan ligan aktif dan tidak aktif (*Virtual Screening*) dan juga memprediksikan afinitasnya (Guedes *et al.*, 2014). Energi ikatan (*Rerank Score*) dari simulasi *docking* ditunjukkan pada tabel 5.7.

Tabel 5.7 Nilai *Rerank Score* terhadap reseptor 4AQ3 (E) dan 2RL5

Reseptor	Senyawa	<i>Rerank Score</i> (Kkal/mol)
4AQ3 (E)	<i>Isoliquiritigenin</i>	-78.5041
	<i>Oxyresveratrol</i>	-87.9985
	Phenylacylsulfonamide inhibitor	-123.174
2RL5	<i>Isoliquiritigenin</i>	-68.0282
	<i>Oxyresveratrol</i>	-73.0413
	2,3-dihydro-1, 4-benzoxazine inhibitor	-123.998

Keterangan : Nama Senyawa (UIPAC)

<i>Isoliquiritigenin</i>	:((2E)-1-(2,4-Dihydroxyphenyl)-3-(4-hydroxyphenyl)-2-propen-1-on)
<i>Oxyresveratrol</i>	:4-[(E)-2-(3,5-Dihydroxyphenyl)vinyl]-1,3-benzenediol
2,3-dihydro-1, 4-benzoxazine inhibitor	:N-(4-Chlorophenyl)-7-[(6,7-Dimethoxyquinolin-4-Yl)oxy]-2,3-Dihydro-1,4-Benzoxazine-4-Carboxamide
Phenylacylsulfonamide inhibitor	:N,N-dibutyl-4-chloro-1-[2-(3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carbonyl)-4-[(7-iodonaphthalen-2-yl)sulfonylcarbamoil]phenyl]-5-methylpyrazole-3-carboxamide

Pada tabel 5.7 hasil *Rerank Score* pada reseptor BCL-2 sebesar sebesar -78.5041 Kkal/mol pada *isoliquiritigenin* dan -87.9985 Kkal/mol pada *oxyresveratrol*. *Rerank Score* *oxyresveratrol* lebih besar dibandingkan dengan *isoliquiritigenin*. *Rerank Score* kedua senyawa tersebut lebih besar dibandingkan dengan nilai *Rerank Score* dari native ligan Phenylacylsulfonamide inhibitor pada reseptor BCL-2. *Rerank Score* dari native ligan tersebut adalah sebesar -123.174 Kkal/mol yang artinya memiliki energi lebih rendah dari kedua senyawa tersebut.

Pada tabel 5.7 hasil *Rerank Score* pada reseptor VEGFR-2 sebesar -68.0282 Kkal/mol pada *isoliquiritigenin* dan -73.0413 Kkal/mol pada *Oxyresveratrol*. Senyawa *oxyresveratrol* memiliki nilai *Rerank Score* yang lebih rendah

dibandingkan *isoliquiritigenin*. *Rerank Score* kedua senyawa tersebut lebih tinggi jika dibandingkan dengan *Rerank Score* dari native ligan *2,3-dihydro-1, 4-benzoxazine inhibitor* reseptor VEGFR-2. *Rerank Score* dari ligan tersebut adalah sebesar -123.998 Kkal/mol yang artinya memiliki energi yang lebih rendah dari kedua senyawa tersebut.

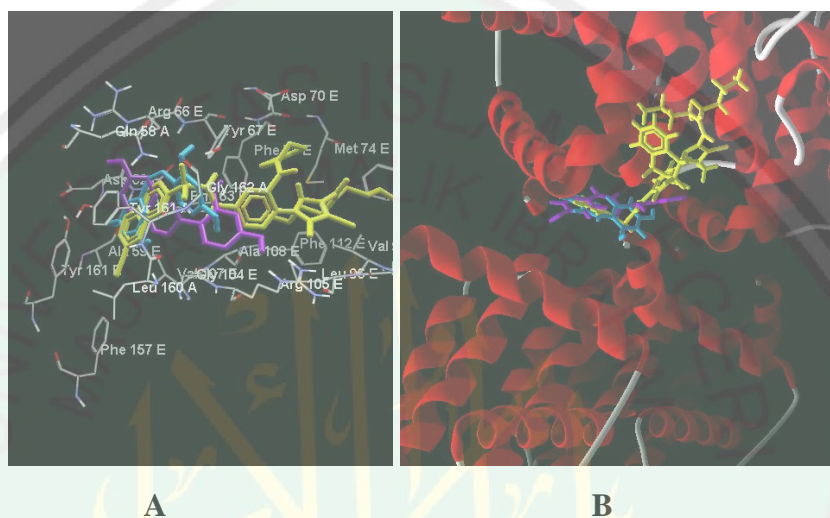
Rerank Score yang semakin kecil menunjukkan bahwa semakin stabilnya ikatan, Semakin stabil ikatan ligan dengan reseptor maka dapat di prediksi semakin besar pula aktivitasnya (Thomsen *et al.*, 2006, Hincliffe, 2008, Kusumaningrum *et al* 2014).

5.4.6 Hasil Interaksi Ligan dengan Asam Amino

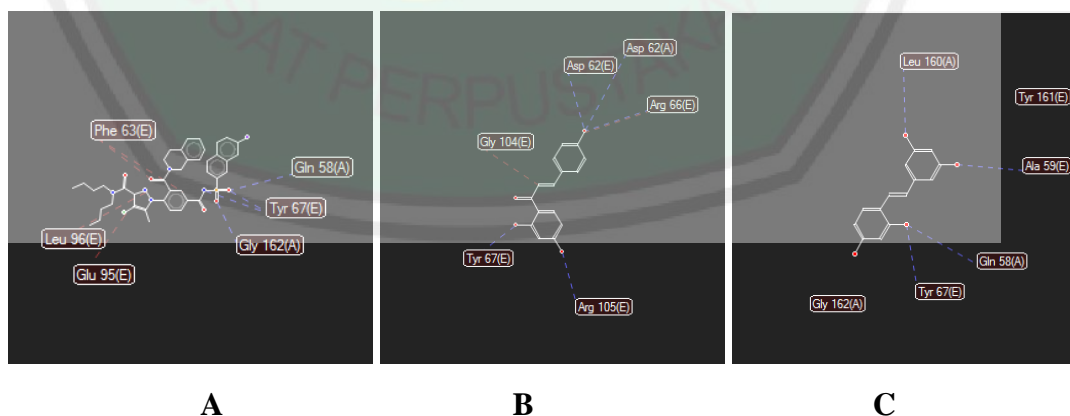
Terdapat interaksi ligan dengan beberapa asam amino yang aktif dari reseptor 4AQ3 (E) dan 2RL5. Salah satu sifat dari reseptor adalah terdiri dari asam amino yang akan berinteraksi dengan ligan sehingga dapat menentukan interaksi yang terjadi pada ikatan ligan dengan asam amino (Yahalom *et al.*, 2011., Khazanov dan karlson 2013). Ikatan hidrogen merupakan ikatan yang spesifik jarak dekat dan berinteraksi langsung. Ikatannya terjadi antara atom hidrogen terikat secara kovalen dan atom elektronegatif (biasanya F,N,S atau O), dan sebuah atom elektronegatif tambahan. (Mughtaridi, 2018).

5.4.6.1 Interaksi Residu Asam Amino 4AQ3 (E)

Posisi terbaik hasil *docking* native ligan *Phenylacylsulfonamide inhibitor*, ligan uji *isoliquiritigenin* dan *oxyresveratrol* ditunjukkan pada gambar 5.4 dan ikatan dengan asam amino ditunjukkan pada gambar 5.5, tabel 5.8 dan tabel 5.9.



Gambar 5.4 Gambar A. Posisi terbaik *Isoliquiritigenin* (warna ungu), *Oxyresveratrol* (warna biru) dan *Phenylacylsulfonamide inhibitor* (warna kuning) terhadap reseptor 4AQ3 (E) dengan Residu asam amino ditunjukkan *stick style* dan ligan dengan *thick lines with fixed colour*. Gambar B. Posisi terbaik *Isoliquiritigenin* (warna ungu), *Oxyresveratrol* (warna biru) dan *Phenylacylsulfonamide inhibitor* (warna kuning) terhadap reseptor 4AQ3 (E).



Gambar 5.5 Bentuk 2 Dimensi ikatan Hidrogen antara (A) *Phenylacylsulfonamide inhibitor* (B) *Isoliquirtigenin* dan (C) *Oxyresveratrol* dengan reseptor 4AQ3 (E) garis biru sebagai ikatan hidrogen dan garis merah sebagai ikatan sterik.

Tabel 5.8 Asam amino dan gugus fungsi yang terlibat dalam ikatan hidrogen dan interaksi sterik pada reseptor 4AQ3 (E)

Senyawa	Asam	Ikatan hidrogen antara		Jarak (Å)	Interaksi sterik dan jarak (Å)
		Gugus asam amino	Gugus ligan		
<i>Phenylacylsulfonamide inhibitor</i>	Gly 162 (A)	N-H	Atom O Nomor 40	3,11	Phe 63(E) (3,15) Leu 96(E) (3,07) Glu 95(E) (3,14)
	Gln 58 (A)	N-H	Atom O Nomor 41	2,81	
	Tyr 67 (E)	O-H	Atom N Nomor 38	3,10	
		O-H	Atom O Nomor 41	3,19	
Isoliquiritigenin	Arg 66 (E)	N-H	Atom O Nomor 10	3,04	Gly 104(E) (2,98) Arg 66 (E) (3,06)
	Asp 62 (A)	C=O	Atom O Nomor 10	2,74	
	Arg 105 (E)	N-H	Atom O Nomor 17	2,63	
	Tyr 67 (E)	O-H	Atom O Nomor 18	3,05	
<i>Oxyresveratrol</i>	Leu 160 (A)	C=O	Atom O Nomor 16	3,06	
	Ala 59 (E)	C=O	Atom O Nomor 17	2,58	
	Gln 58 (A)	N-H	Atom O Nomor 7	3,09	
	Tyr 67 (E)	O-H	Atom O Nomor 7	3,12	

Keterangan: Nama Senyawa (IUPAC)

Isoliquiritigenin

:((2E)-1-(2,4-Dihydroxyphenyl)-3-(4-hydroxyphenyl)-2-propen-1-on)

Oxyresveratrol

:(4-[(E)-2-(3,5-Dihydroxyphenyl)vinyl]-1,3-benzenediol)

Phenylacylsulfonamide inhibitor

:N,N-dibutyl-4-chloro-1-[2-(3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carbonyl)-4-[(7-iodonaphthalen-2-yl)sulfonylcarbamoyl]phenyl]-5-methylpyrazole-3-carboxamide.

Tabel 5.9 Residu asam amino yang terlibat dalam proses ikatan hidrogen dan interaksi sterik pada reseptor 4AQ3 (E)

Senyawa	Ikatan hidrogen								Interaksi sterik				
	Arg 105 (E)	Tyr 67 (E)	Arg 66 (E)	Asp 62 (A)	Leu 160 (A)	Ala 59 (E)	Gln 58 (A)	Gly 162 (A)	Phe 63 (E)	Leu 96 (E)	Glu 95 (E)	Gly 104 (E)	Arg 66 (E)
<i>Isoliquiritigenin</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+
<i>Oxyresveratrol</i>	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
<i>Phenylacylsulfonamide inhibitor</i>	-	++	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-

Keterangan: Nama Senyawa (IUPAC)

+

: Satu gugus asam amino yang terlibat

++

: Dua gugus asam amino yang terlibat

Isoliquiritigenin

:((2E)-1-(2,4-Dihydroxyphenyl)-3-(4-hydroxyphenyl)-2-propen-1-on)

Oxyresveratrol

:(4-[(E)-2-(3,5-Dihydroxyphenyl)vinyl]-1,3-benzenediol)

Phenylacylsulfonamide inhibitor

:N,N-dibutyl-4-chloro-1-[2-(3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carbonyl)-4-[(7-iodonaphthalen-2-yl)sulfonylcarbamoyl]phenyl]-5-methylpyrazole-3-carboxamide

Pada gambar 5.4 menunjukkan posisi terbaik dari native ligan *Phenylacylsulfonamide inhibitor*, ligan uji *isoliquiritigenin* dan *oxyresveratrol*. Pada gambar 5.5 menunjukkan ikatan hidrogen dan juga ikatan sterik. Ikatan hidrogen ditandai dengan garis putus putus berwarna biru dan pada ikatan sterik ditunjukkan dengan garis putus putus berwarna merah. Pada tabel 5.8 dan 5.9 menunjukkan ikatan hasil *docking* menggunakan reseptor 4AQ3 (E). Pada native ligan *Phenylacylsulfonamide inhibitor*, didapatkan ikatan asam amino yang diikat yaitu Gly 162 (A), Gln 58 (A) Tyr 67 (E). Pada ligan *isoliquiritigenin* yaitu Arg 66 (E), Asp 62 (A), Arg 105 (E), Tyr 67 (E). Pada ligan *oxyresveratrol* berikatan dengan asam amino Leu 160 (A), Ala 59 (E), Gln 58 (A), dan Tyr 67 (E).

Senyawa *isoliquiritigenin* memiliki ikatan hidrogen yang sama dengan native ligan *Phenylacylsulfonamide inhibitor* yaitu asam amino Tyr 67 (E). Jika dibandingkan dengan asam amino yang aktif, *Isoliquiritigenin* menunjukkan ikatan dengan asam amino Arg 105 namun tidak dengan Arg 66 (E) dan Asp 62 (A). Berdasarkan tabel 5.8 dan 5.9 Interaksi yang terlibat dalam ikatan hidrogen ditunjukkan pada atom O pada gugus OH pada O nomor 18 dengan jarak ikatan sebesar 3.05 Å dengan mengikat gugus O-H pada gugus asam amino Tyr 67 (E), dan atom N pada gugus N-H pada O nomor 17 dengan jarak ikatan sebesar 2.63 Å dengan mengikat gugus N-H pada gugus asam amino Arg 105 (E).

Senyawa *oxyresveratrol* memiliki ikatan yang sama dengan native ligan yaitu asam amino yang sama yaitu Tyr 67 (E). Ikatannya dengan asam amino yang aktif hanya pada Tyr 67 namun tidak dengan Leu 160 (A), Ala 59 (E), Gln 58 (A). Berdasarkan tabel 5.8 dan 5.9 Interaksi yang terlibat dalam ikatan hidrogen

ditunjukkan pada atom O pada O-H pada O nomor 7 dengan jarak ikatan 3,12 Å dengan mengikat gugus O-H pada gugus asam amino Tyr 67 (E).

Asam amino Gly 162 (A), Gln 58 (A), Asp 62 (A), Leu 160 (A) tidak memiliki peran apapun karena memang asam amino tersebut merupakan asam amino pada protein reseptor 4AQ3 (A) yang ikut terikat di dalam melakukan *docking*.

Adanya kesamaan asam amino Tirosin (Tyr) 67 (E) pada kedua ligan uji dan native ligan didapatkan bahwa asam amino Tyr 67 (E) merupakan sisi aktif pada reseptor 4AQ3(E). Residu asam amino Tyr 67 (E) ini terdapat pada domain BH3 dari Bcl-2. Ikatan ini akan mengaktifkan BH-3 sehingga akan menjadi Pro-Apoptosis. Pro-apoptosis ini akan bersaing dengan anti apoptosis. Sehingga ketika pro-apoptosis lebih banyak akan me-mediasi pelepasan sitokrom-C dari mitokondria. Setelah sitokrom-C keluar dari mitokondria sitokrom-C akan diikat oleh Apaf-1 (*Apoptosis Activating Factor*), Lalu akan diikat dan membentuk CARD domain (*Caspase Recruitment Domain*) dan membentuk Apoptosome. Apoptosome ini lah yang akan mengaktifasi *caspase 9*. Sehingga *caspase 9* akan mengaktifasi *caspase 3*. *Caspase 3* merupakan mediator kematian sel (apoptosis) (Chipuk *et al*, 2010).

Ikatan Tyr 67 (E) pada native ligan dapat dikatakan lebih baik dari senyawa uji karena pada native ligan terdapat gugus ligan atom N nomor 38 dan atom O nomor 41. Ikatan hidrogen pada atom O nomor 41 memiliki ikatan hidrogen yang sangat kuat dibanding ikatan atom N (Muchtaridi *et al*, 2018). Sedangkan pada

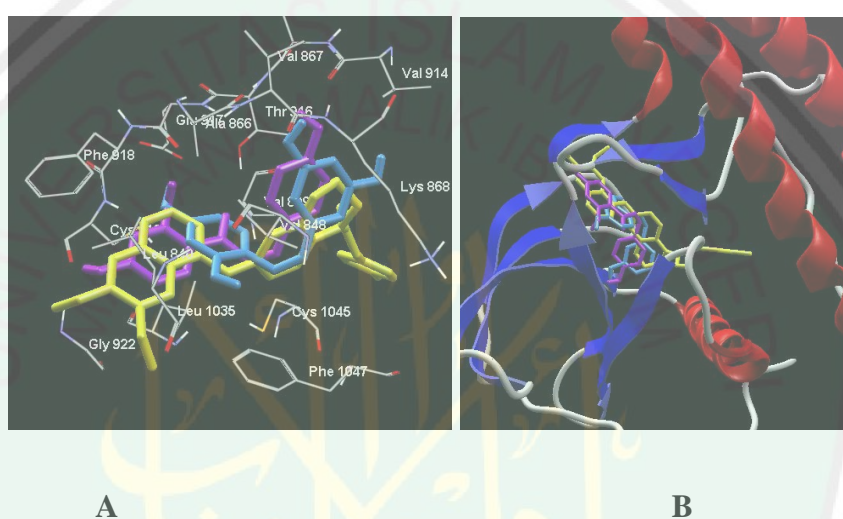
ligan *isoliquiritigenin* dan *oxyresveratrol* hanya memiliki ikatan pada atom O sehingga kekuatan ikatannya dibawah dari native ligan.

Asam amino Arginin (Arg) 105 (E) yang berikatan pada senyawa *isoliquiritigenin* merupakan sisi aktif dari reseptor Bcl-2 (Mala *et al*, 2015). Sehingga ikatannya untuk mengaktivasi BH3 meningkat. Namun pada residu asam amino Arg 66 (E) dan Ala 59 (E) bukan merupakan sisi aktif dari reseptor. Ikatan terhadap sisi yang tidak aktif yang dapat memungkinkan untuk mengurangi efek dari senyawa tersebut (Clemente *et al*, 2004). Untuk menjadikan sisi tidak aktif menjadi aktif dapat dilakukan Penambahan gugus fosfat (Yamamoto *et al*, 1999).

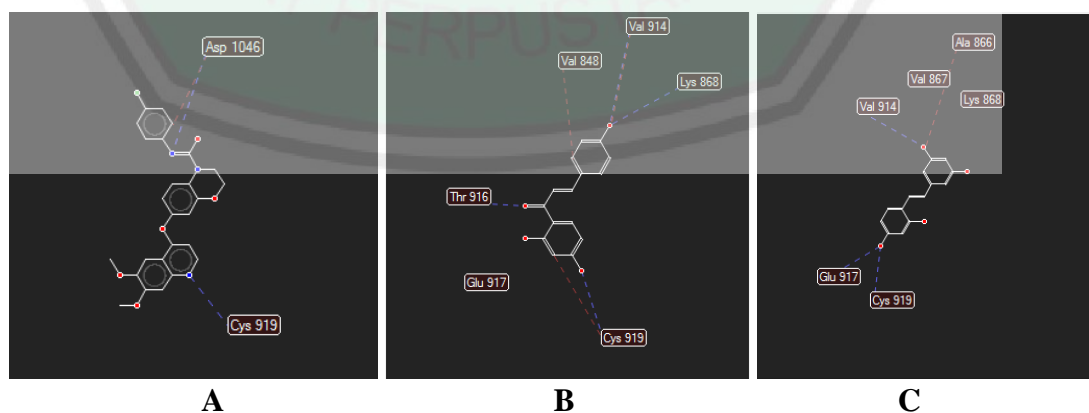
Ikatan sterik yang terdapat pada uji kali ini pada native ligan terdapat asam amino Phe 63(E), Leu 96(E) dan Glu 95(E). Lalu pada ligan *Isoliquiritigenin* terdapat asam amino Gly 104(E) dan Arg 66 (E). Namun pada ligan *Oxyresveratrol* tidak terdapat ikatan sterik yang terjadi. Asam amino tersebut dapat lebih menstabilkan suatu ikatan, Karena ikatan sterik (Van der Waals) ketika terdapat dua atom yang saling berdekatan akan membentuk gaya tarik yang lemah dan non spesifik. Interaksi sterik (Van der Waals) ini kekuatannya akan berkurang drastis ketika jarak molekul meningkat. Ikatan sterik dapat memberikan tempat bagi interaksi hidrogen dengan asam amino yang aktif. Suatu ikatan sterik sangat mempengaruhi ikatan hidrogen yang terjadi (Muchtaridi *et al*, 2018)

5.4.6.2 Interaksi Residu Asam Amino 2RL5

Posisi terbaik hasil *docking* antara native ligan *2,3-dihydro-1, 4-benzoxazine inhibitor*, senyawa uji *isoliquiritigenin* dan *oxyresveratrol* ditunjukkan pada gambar 5.6 dan ikatan dengan asam amino ditunjukkan pada gambar 5.7, tabel 5.10 dan tabel 5.11.



Gambar 5.6 Gambar A. Posisi terbaik senyawa *isoliquiritigenin* (warna ungu), *oxyresveratrol* (warna biru) dan *2,3-dihydro-1, 4-benzoxazine inhibitor* (warna kuning) terhadap reseptor 2RL5 dengan Residu asam amino ditunjukkan *stick style* dan ligan ditunjukkan dengan *thick lines with fixed colour*. Gambar B Posisi terbaik *isoliquiritigenin* (warna ungu), *oxyresveratrol* (warna biru) dan *2,3-dihydro-1, 4-benzoxazine inhibitor* (warna kuning) terhadap reseptor 2RL5.



Gambar 5.7 Bentuk dua dimensi ikatan hidrogen antara *2,3-dihydro-1, 4-benzoxazine inhibitor* (A) *isoliquirtigenin* (B) dan *oxyresveratrol* (C) pada reseptor

2RL5 dengan garis biru sebagai ikatan hidrogen dan garis merah sebagai ikatan sterik

Tabel 5.10 Asam Amino dan gugus fungsi yang terlibat dalam ikatan hidrogen dan interaksi sterik pada reseptor 2RL5

Senyawa	Asam amino	Ikatan hidrogen antara		Jarak (Å)	Interaksi sterik dan jarak (Å)
		Gugus asam amino	Gugus ligan		
<i>2,3-dihydro-1,4-benzoxazine inhibitor</i>	Cys 919	N-H	Atom N nomor 11	2,86	Asp 1046 (3,15)
	Asp 1046	N-H	Atom N nomor 25	3,43	
<i>Isoliquiritigenin</i>	Thr 916	C-H	Atom O nomor 3	3,16	Cys 919 (3,04) Val 848 (3,02) Val 914 (2,99)
	Cys 919	C=O	Atom O nomor 17	3,06	
	Lys 868	N-H	Atom O nomor 10	2,93	
	Val 914	C=O	Atom O nomor 10	2,18	
<i>Oxyresveratrol</i>	Glu 917	C=O	Atom O nomer 6	3,01	Ala 866 (3,07)
	Cys 919	N-H	Atom O nomer 6	2,94	
	Lys 868	N-H	Atom O nomer 16	3,14	
	Val 914	C=O	Atom O nomer 16	3,14	

Keterangan :Nama Senyawa (UIPAC)

Isoliquiritigenin

:((2E)-1-(2,4-Dihydroxyphenyl)-3-(4-hydroxyphenyl)-2-propen-1-on)

Oxyresveratrol

:(4-[(E)-2-(3,5-Dihydroxyphenyl)vinyl]-1,3-benzenediol)

2,3-dihydro-1, 4-benzoxazine inhibitor

:N-(4-Chlorophenyl)-7-[(6,7-Dimethoxyquinolin-4-Yl)oxy]-2,3-Dihydro-1,4-Benzoxazine-4-Carboxamide

Tabel 5.11 Residu asam amino yang terlibat dalam proses ikatan hidrogen dan interaksi sterik pada reseptor 2RL5

Senyawa	Ikatan Hidrogen						Interaksi sterik				
	Asp 1046	Cys 919	Lys 868	Tyr 916	Val 914	Glu 917	Asp 1046	Cys 919	Val 848	Val 914	Ala 966
<i>Isoliquiritigenin</i>	-	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-
<i>Oxyresveratrol</i>	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+
<i>2,3-dihydro-1,4-benzoxazine inhibitor</i>	+	+	-	-	-	-	+	-	-		-

Keterangan: Nama Senyawa (IUPAC)

+

: Satu gugus asam amino yang terlibat

Isoliquiritigenin

:((2E)-1-(2,4-Dihydroxyphenyl)-3-(4-hydroxyphenyl)-2-propen-1-on)

Oxyresveratrol

:(4-[(E)-2-(3,5-Dihydroxyphenyl)vinyl]-1,3-benzenediol)

2,3-dihydro-1, 4-benzoxazine inhibitor

:N-(4-Chlorophenyl)-7-[(6,7-Dimethoxyquinolin-4-Yl)oxy]-2,3-Dihydro-1,4-Benzoxazine-4-Carboxamide

Gambar 5.6 menunjukkan posisi terbaik dari *isoliquiritigenin* (warna ungu), *oxyresveratrol* (warna biru) dan *2,3-dihydro-1, 4-benzoxazine inhibitor* (warna kuning) terhadap reseptor 2RL5 dengan residu asam amino ditunjukkan *stick style* dan ligan ditunjukkan dengan *thick lines with fixed colour*. Pada gambar 5.7 menunjukkan ikatan hidrogen dan ikatan sterik dengan garis biru sebagai ikatan hidrogen dan garis merah sebagai ikatan sterik. Pada tabel 5.10 dan tabel 5.11 menunjukkan ikatan hasil *docking* menggunakan reseptor 2RL5. Pada native ligan *2,3-dihydro-1, 4-benzoxazine inhibitor* didapatkan beberapa residu asam amino yang diikat yaitu Cys 919 dan Asp 1046. Pada ligan *isoliquiritigenin* yaitu Thr 916, Cys 919, Lys 868, Val 914. Pada ligan *oxyresveratrol* yaitu Glu 917, Cys 919, Lys 868, Val 914.

Senyawa *isoliquiritigenin* hanya mengikat residu asam amino yang sama dengan native ligan yaitu Cys 919. Jika dibandingkan dengan residu asam amino yang aktif *isoliquiritigenin* juga menunjukkan ikatannya pada Thr 916, Lys 868, Val 914. Berdasarkan tabel 5.10 dan 5.11 Interaksi ikatan hidrogen senyawa *isoliquiritigenin* dengan residu asam amino ditunjukkan dengan terlibatnya atom O gugus OH pada O nomor 17 dengan jarak ikatan sebesar 3.05 Å dengan gugus C=O pada gugus asam amino Cys 919, atom C gugus C-H pada O nomor 3 dengan jarak ikatan sebesar 3.14 Å dengan gugus C-H pada gugus asam amino Thr 916, dan atom N gugus N-H pada O nomor 10 dengan jarak ikatan sebesar 2.18 Å dengan gugus N-H pada gugus asam amino Lys 868.

Senyawa *oxyresveratrol* hanya mengikat residu asam amino yang sama dengan kontrol pada asam amino Cys 919. Jika dibandingkan dengan residu asam

amino yang aktif, *Oxyresveratrol* juga menunjukkan ikatannya dengan asam amino Lys 868 namun tidak dengan Glu 917 dan Val 914. Berdasarkan tabel 5.8 Interaksi ikatan hidrogen senyawa dengan residu asam amino ditunjukkan dengan terlibatnya atom O gugus OH pada O nomor 6 dengan jarak ikatan sebesar 2.94 Å dengan gugus N-H pada gugus asam amino Cys 919 dan atom N gugus N-H pada O nomor 16 dengan jarak ikatan sebesar 3.14 Å dengan gugus N-H pada gugus asam amino Lys 868.

Adanya kesamaan residu sistein (Cys) 919 yang terlibat dalam proses pengikatan dari reseptor 2RL5 akan menyebabkan senyawa dapat menghambat aktivitas dari reseptor VEGFR-2 dengan berkompetisi secara (competitive inhibitor). Menurut penelitian La *et al* (2018) menyatakan bahwa ikatan ligan dengan asam amino Cys 919 sebagai sisi aktif akan meningkatkan ikatan dengan terlibatnya ikatan amida NH atau aryl C-H dari asam amino sistein. Pada asam amino Lys 868 pada penelitian Ebadi *et al* (2012) dapat bertanggung jawab dan meningkatkan ikatan pada sisi aktif reseptor. Penelitian ini juga menyatakan bahwa asam amino Valin (Val) memiliki ikatan namun ikatan tersebut tidak sesuai pada sisi aktif reseptor. Asam Glutamat (Glu) 917 bukan merupakan asam amino aktif dari reseptor. Asam amino Glu yang aktif pada reseptor 2RL5 yaitu Glu 885 (La *et al*, 2008, Ugale *et al*, 2017). Peran dari Asam Glutamat (Glu) telah dilaporkan pada penelitian Baek *et al* (2017) yang memiliki peran dalam menghambat perkembangan tumor dengan menekan proses angiogenesis dan permeabilitas melalui jalur VEGFR-2. Pada ikatan Thr 916 pada reseptor 2RL5 merupakan ikatan yang stabil (Meng, 2013).

Interaksi sterik (Van der Waals) pada tabel 5.10 dan 5.11 menunjukkan ikatan sterik dengan asam amino Asp 1046, Cys 919, Val 848, Val 914 dan Ala866. Asam amino tersebut dapat lebih menstabilkan suatu ikatan. Karena ikatan sterik (Van der Waals) ketika terdapat dua atom yang saling berdekatan akan membentuk gaya tarik yang lemah dan non spesifik. Interaksi sterik (Van der Waals) ini kekuatannya akan berkurang drastis ketika jarak molekul meningkat. Suatu ikatan sterik sangat mempengaruhi ikatan hidrogen yang terjadi (muchtaridi *et al*, 2018). Ikatan sterik dapat memberikan tempat bagi ikatan hidrogen dengan asam amino yang aktif sehingga akan menstabilkan suatu ikatan

5.5 Prediksi Toksisitas secara *In Silico*

Studi *In silico* selanjutnya adalah untuk memprediksi toksisitas senyawa *Isoliquiritigenin* dan *Oxyresveratrol*. Prediksi toksisitas ini berdasarkan nilai LD₅₀. Selain itu berdasarkan *Globally Harmonized System* (GHS) kelas toksisitas dapat dibagi menjadi kelas toksisitas 1 hingga 6. Keenam kelas toksisitas tersebut menggunakan ambang batas LD₅₀ dari 5, 50, 300, 2000 dan 5000 mg/kg berat badan (Drwal., *et al*, 2014). Prediksi toksisitas menggunakan parameter LD 50, Uji Mutagenin AMES, Hepatotoxicity, Skin Sensitization dan kelas toksisitas dengan aplikasi *Protox II online tool* dan *pkCSM online tool* hasil ditunjukkan pada tabel

5.11

Tabel 5.12 Prediksi toksisitas menggunakan *Protox II Online tool* dan *pkCSM Online tool*

Nama Senyawa	Toksistas				
	LD ₅₀ (mg/kg)*	Uji Mutagenik AMES**	Toksik terhadap hepar**	Sensitivitas kulit**	Kelas toksistas*
<i>Isoliquiritigenin</i>	1048	Tidak	Tidak	Tidak	4
<i>Oxyresveratrol</i>	1560	Iya	Tidak	Tidak	4
<i>2,3-dihydro-1,4-benzoxazine inhibitor</i>	5000	Tidak	Iya	Tidak	5
<i>Phenylacylsulfonamide inhibitor</i>	370	Tidak	Iya	Tidak	4

Keterangan :

* Menggunakan Protox II Online Tool

** Menggunakan pkCSM Online Tool

LD₅₀ : Letal Dose 50

Nama UIPAC

Isoliquiritigenin : ((2E)-1-(2,4-Dihydroxyphenyl)-3-(4-hydroxyphenyl)-2-propen-1-on)

Oxyresveratrol : (4-[(E)-2-(3,5-Dihydroxyphenyl)vinyl]-1,3-benzenediol)

2,3-dihydro-1,4-benzoxazine inhibitor : N-(4-Chlorophenyl)-7-[(6,7-Dimethoxyquinolin-4-Yl)oxy]-2,3-Dihydro-1,4-Benzoxazine-4-Carboxamide

Phenylacylsulfonamide inhibitor : N,N-dibutyl-4-chloro-1-[2-(3,4-dihydro-1H-isoquinoline-2-carbonyl)-4-[(7-iodonaphthalen-2-yl)sulfonylcarbonyl]phenyl]-5-methylpyrazole-3-carboxamide

Berdasarkan tabel 5.12 Hasil yang didapatkan Senyawa *Isoliquiritigenin* memiliki nilai LD₅₀ pada hewan coba (*rodent*) sebesar 1048 mg/kg dan dapat dikalsifikasikan pada kelas toksistas 4, selain itu *Isoliquiritigenin* tidak menimbulkan toksistas pada bakteri (Uji mutagenik AMES), Hepatotoxicity dan skin sensitization. Senyawa *Oxyresveratrol* memiliki nilai LD₅₀ pada hewan coba (*rodent*) sebesar 1560 mg/kg dan dapat diklasifikasikan dalam class toxicity class 4 senyawa *Oxyresveratrol* ini menimbulkan toksistas pada bakteri (Uji Mutagenik AMES) namun tidak menimbulkan *hepatotoxicity* dan *skin sensitization*. Pada kedua senyawa perbandingan dapat diprediksi toksik terhadap hepar namun tidak

menimbulkan mutagenik dan juga sensitif pada kulit. Nilai LD_{50} dari senyawa 2,3-dihydro-1, 4-benzoxazine inhibitor cukup tinggi yaitu 5000mg/kg hal ini dapat dikategorika pada kelas toksisitas kelas 5. Namun pada senyawa Phenylacylsulfonamide inhibitor dapat diprediksi memiliki LD_{50} sebesar 370 mg/kg yang termasuk dalam kelas toksisitas kelas 4. Berdasarkan hasil diatas nilai LD_{50} antara 500-2000 mg/kg dan toksisitas kelas 5 dan 4 menunjukkan toksisitas yang relatif rendah. Semakin tinggi nilai LD_{50} maka semakin rendah toksisitasnya (Supandi *et al.*, 2018).

5.6 Analisis Data Statistik

Hasil *Rerank Score* dianalisis secara statistik dengan menggunakan program *SPSS 24,0 for windows*. Untuk menentukan suatu senyawa aktif atau inaktif dapat dilakukan dengan cara uji banding antar dan inter kelompok menggunakan uji statistik ANOVA. Dengan menggunakan nilai *Rerank Score* yang telah dilakukan replikasi tiga kali sehingga dapat dilakuan uji statistika ANOVA. Uji ini dapat untuk mengetahui ligan uji lebih baik dibandingkan native ligan. Hasil analisis dara statistik ditunjukkan pada tabel 5.13.

Tabel 5.13 Analisis uji banding menggunakan uji statistik ANOVA

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Erro r	Sig. (<i>p-value</i>)	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Pembading BCL-2 (4AQ3(E))	Isoliquiritigenin BCL-2	-44,670333*	5,291 879	,000	-57,61910	-31,72157
	Oxyresveratrol BCL-2	-35,176000*	5,291 879	,001	-48,12476	-22,22724
Pembanding VEGFR-2 (2RL5)	Isoliquiritigenin VEGFR-2	-55,969667*	1,978 414	,000	-60,81067	-51,12866
	Oxyresveratrol VEGFR-2	-50,956667*	1,978 414	,000	-55,79767	-46,11566

Sumber : Lampiran 1 dan lampiran 2

Berdasarkan tabel 5.13 menunjukkan hasil analisis uji beda dengan masing masing ligan uji terhadap native ligan. Hasil pengolahan data statistik ANOVA yang didapat nilai *p-value* pada reseptor 4AQ3 (E) pada masing masing ligan uji terhadap native ligan menunjukkan nilai signifikan kurang dari 0,005 dan Hasil pengolahan data statistik ANOVA nilai *p-value* pada reseptor 2RL5 pada masing masing ligan uji terhadap native ligan menunjukkan nilai signifikan kurang dari 0,005. Hasil yang didapatkan pada reseptor 4AQ3 (E) dan 2RL5 ligan uji terdapat perbedaan yang signifikan terhadap native ligan. Dengan nilai *p-value* kurang dari 0,005 yang berarti ligan uji pada masing masing reseptor berbeda aktivitasnya dengan native ligan atau dapat dinyatakan tidak memiliki efek yang sama dengan native ligan. Sedangkan apabila didapatkan *p-value* lebih dari 0,005 maka dapat dinyatakan skor ligan uji tidak berbeda dengan native ligan atau dapat dinyatakan memiliki efek yang sama (Mumpuni *et al*, 2015).

BAB VI

PENUTUP

6.1 Simpulan

Penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan :

1. Senyawa *isoliquiritigenin* dan *oxyresveratrol* telah memenuhi hukum lima Lipinski dan diprediksi senyawa tersebut mudah untuk diabsorpsi dan memiliki permeabilitas yang tinggi.
2. Senyawa *oxyresveratrol* memiliki aktivitas lebih baik dibanding *isoliquiritigenin* pada reseptor 4AQ3 (E) dan 2RL5. Tetapi tidak lebih baik dibanding senyawa pembanding inhibitor reseptornya dengan ditunjukkan dengan ikatannya pada ligan aktif Tyr 67 pada reseptor 4AQ3(E) dan Cys 919 pada reseptor 2RL5.
3. Senyawa *isoliquiritigenin* dan *oxyresveratrol* menurut *Globally Harmonized System* (GHS) dapat disimpulkan memiliki toksisitas yang relatif rendah.

6.2 Saran

Bagi peneliti selanjutnya yaitu analisis dinamika molekular untuk mengetahui ikatan asam amino yang lebih lengkap, dilakukan perubahan struktur dan modifikasi turunan senyawa, dan juga dilakukan uji sitotoksik terhadap kultur sel *hela* dari senyawa *Isoliquiritigenin* dan *Oxyresveratrol*



DAFTAR PUSTAKA

- Aidh, Al-Qarni. 2008. *Tafsir Muyassar*. Jakarta: Qisthi pres
- Ahmad, M. 2016. Karakteristik Ibu yang Melakukan Pemeriksaan Pap Smear di RSPAD Gatot Soebroto, Jakarta. *Jurnal Ilmu Kesehatan Masyarakat*. Vol. 05, No. 01
- Amalia, L. 2009. *Kanker Serviks & 32 Jenis Kanker Lainnya*. Yogyakarta: Landscape.
- Andrabi, S.A., Spina, M.G., Lorenz, P., Ebmeyer, U., Wolf, G and Horn, T.F., 2004. *Oxyresveratrol (trans-2,3,4,5-tetrahydroxystilbene)* is neuroprotective and inhibits the apoptotic cell death in transient cerebral ischemia. *Brain Res.*, 1017: 98-107
- Arung, E. T., Wicaksono, D. B., Sandra F., 2009. *Prenylated Flavonoid* sebagai Senyawa Anti Kanker yang Berpotensi. *CDK 167*. Vol 36 No 1
- Baek, Y.Y, Lee, D.K., Kim, J., Kim, J.H., Park, W., Kim, T., Han, S., Jeoung, D., You, J.C., Lee, H., Won, M.H., Ha, K.S., Kwon, Y.G., Kim, Y.M., 2017. Arg-Leu-Tyr-Glu Tetrapeptide Inhibits Tumor Progression By Suppressing Angiogenesis And Vascular Permeability Via Vegf Receptor-2 Antagonism. *Oncotarget*, 2017, Vol. 8, (No. 7), Pp: 11763-11777
- Becker, C. A., and Van den Brink, R. C. B., 1968. *Flora of Jawa (Spermatophytes only) vol II*. Groningan-The Netherlands: Wolters-Noordhoff.
- Bhatla, N., Aoki D., Sharma D, N., Sankaranarayanan R, 2018. Cancer of the cervix uteri. *Int J Gynecol Obstet* 143 (Suppl. 2): 22–36.
- Bleicher, K. Fl., H.-J. Böhm, K. Müller, and A. I. Alanine. 2003. A guide to drug discovery: Hit and lead generation: Beyond high-throughput screening. *Nat. Rev. Drug Disco-a*. 2(5): 369-378.

- Botta, B., Vitali, A., Menendez, P., Misiti, D., and Monache, G.D., 2015. Prenylated flavonoids : Pharmacology and biotechnology. *Curr Med Chem*. Volume 12: 713-739
- Bruice, P., 2003. *Organic Chemistry. Ed ke-4*. New Jersey (US): Prentice Hall
- Bruni, L., Albero, G., Serrano, B., Mena, M., Gómez, D., Muñoz, J., Bosch, F.X., de Sanjosé, S.. ICO/IARC. 2018. Information Centre on HPV and Cancer (HPV Information Centre). *Human Papillomavirus and Related Diseases in Asia*. Summary Report 10 December 2018
- Burk, R. D., Chen, Z., and Van Doorslaer, K., 2009. Human papillomaviruses: genetic basis of carcinogenicity. *Public Health Genomics*, 12(5-6), 281-290
- Cao, Y., Wang, Y., Ji, C., and Ye, J., 2004. Determination Of Liquiritigenin And Isoliquiritigenin In Glycyrrhiza Uralensis And Its Medicinal Preparations By Capillary Electrophoresis With Electrochemical Detection. *J Chromatogr A* ;1042:203–209. [Pubmed: 15296407]
- Chakraborty, P and Ramakrishnan, M., 2016. Role of P-glycoprotein in Chemotherapeutic Drug Resistance and Mechanisms of Pump Deactivation to Overcome MDR in Cancer Cells – A Critical Review. 1(2), pp. 31–38.
- Chan, SC., Chang, YS., Wang, JP., Chen, SC., and Kuo, SC., 1998. Three new flavonoids and antiallergic, anti-inflammatory constituents from the heartwood of *Dalbergia odorifera*. *Planta Med* 64:153–158.
- Chander, S., Tang, C.R., Al-Maqtari, H.M., Jamalis, J., Penta, A., Hadda, T.B., Sirat, H.M., Zheng, Y.T., Sankaranarayanan, M., 2017. Synthesis and study of anti-HIV-1 RT activity of 5-benzoyl-4-methyl-1,3,4,5-tetrahydro-2h-1,5-benzodiazepin-2-one derivatives. *Bioorg Chem*. 72:74–79. doi:10.1016/j.bioorg.2017.03.013.

- Chen, H.Y., Huang, T.C., Shieh, T.M., Wu, C.H., Lin, L.C., and Hsia, S.H., 2017. *Isoliquiritigenin* Induces Autophagy And Inhibits Ovarian Cancer Cell Growth. *International Journal Of Molecular Sciences*. 18. 2025
- Chikhi, A and Bensegueni, A., 2008. Comparative Study of the Efficiency of Three Protein-Ligand Docking Programs. *Journal of Proteomics & Bioinformatics*, Volume 1(3) :161-165
- Chipuk, J.E., MoLDoveanu, T., Llambi, F., Parsons, M.J., Green, D.R., The BCL-2 family reunion. *Molecular cell*. 2010;37:299–310
- Chuanasa, T., Phromjai, J., Lipipun, V., Likhithitayawuid K., Suzuki, M., Pramyothin, P., Hattori, M., Shiraki, K., 2008. Anti-herpes simplex virus (HSV-1) activity of *Oxyresveratrol* derived from Thai medicinal plant: Mechanism of action and therapeutic efficacy on cutaneous HSV-1 infection in mice. *Antiviral research*. Vol 80 Hal :62-70
- Chung, KO., Kim, BY., Lee, MH., Kim, YR., Chung, HY., Park, JH., Moon, JO., 2003. In-vitro and in-vivo anti-inflammatory effect of *Oxyresveratrol* from *Morus alba* L. *J Pharm Pharmacol*. Vol 55(12):1695-700
- Chung, S.H., and Lambert P.F., 2009. *Prevention And Treatment Of Cervical Cancer In Mice Using Estrogen Receptor Antagonists*. Usa; Proc Natl Acad Sci.
- Chung, S.H., Franceschi, S., Lambert, P.F., 2010. Estrogen and ERα: Culprits in cervical cancer?. *Trends in Endocrinology and Metabolism*. Hal 504–51
- Chung, S.H., Shin, M.K., Korach, K.S., Lambert, P.F. 2013. Requirement For Stromal Estrogen Receptor Alpha In Cervical Neoplasia. *Horm Cancer*. 4(1). 50–59
- Chung, SH., Shin, MK., Korach, KS., and Lambert, PF.. Requirement for stromal estrogen receptor alpha in cervical neoplasia. *Horm Cancer*. 2013;4:50–9
- CLCbio, 2013, *Molegro Virtual Docker User Manual, MVD 2013.6.0 for Windows, Linux, and Mac OS X*, Molegro A CLC bio company

Clemente, J.C., Moose, R.E., Hemrajani, R., Whitford, L.R.S., Govindasamy, L., Reutzel, R., Mckenna, R., Agbandje-Mckenna, M., Goodenow, M.M., And Dunn, B.M., 2004. Comparing The Accumulation Of Active- And Nonactive-Site Mutations In The Hiv-1 Protease. *Biochemistry*, Vol. 43, No. 38,

Cronquist, A. 1981. *An Intergrated System of Clasification of Flowering Plants*. New York: Columbia University Press.

Cuendet, M., Guo, J., Luo, Y., Chen, S., Oteham, C.P., Moon, R.C., Breemen, R.B. Van., Marler, L.E., And Pezzuto, J.M., 2010. Cancer Chemopreventive Activity And Metabolism Of *Isoliquiritigenin*, A Compound Found In Licorice. *Cancer Prev Res (Phila)* 3(2)

Dai, H., Meng, X.W., Kaufmann, S. H., 2016. BCL2 Family, Mitochondrial Apoptosis, and Beyond. *Cancer Translational Medicine* 2(1):7–20

Dias, R., de Azevedo, W.F., 2008. Molecular *Docking* Algorithms. *Current Drug Targets* 9:1040-1047.

Dipiro.J.T, Talbert R.I. and Yee G.C., 2009, *Pharmacoterapy Handbook 7th edition*,. New York. Mc Graw Hill

Djalil, A.D., Kartasasmita, R.E. Surantaatmaja, S.I., and D.H.,Tjahjono, 2012 : Toxicity Prediction of Photosensitizer Bearing Carboxylic Acid Groups by ECOSAR and TOXTREE, *Journal of Pharmacology and Toxicology* .7 (5), 219-230

Donatus, I.A. 2005. *Toksikologi Dasar. Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi*. Fakultas Farmasi. UGM. Yogyakarta

Drwal, M. N., Banerjee, P., Dunkel, M., Wettig, M. R., & Preissner, R. 2014. ProTox: a web server for the *in silico* prediction of rodent oral toxicity. *Nucleic Acids Research*, 42(W1), W53–W58. <http://doi.org/10.1093/nar/gku401>

- Ebadi, A., Razzaghi-Aslc,N., Shahabipour, S., And Miri, R., 2014. *Ab-Initio* And Conformational Analysis Of A Potent Vegfr-2 Inhibitor: A Case Study On Motesanib. *Iranian Journal Of Pharmaceutical Research*, 13 (2): 405-415
- Ekins, S., Mestres, J and Testa, B., 2007. In Silico Pharmacology For Drug Discovery: Methods Fo Virtual Ligand Screening And Profiling. *British Journal Of Pharmacology*, 152, 9-20.
- El-Din, H. M. A., Loutfy, S. A., Fathy, N., Elberry, M.H, Mayla, A.M., Kassem, S., Naqvi, A., 2016. Molecular *docking* based screening of compounds against VP40 from Ebola virus. *Bioinformation*. 12(3): 192-196
- Fang, S.C., C.L. Hsu and G.C. Yen, 2008. Anti-inflammatory effects of phenolic compounds isolated from the fruits of *Artocarpus heterophyllus*. *J. Agric. Food Chem.* 56: 4463-4468.
- Faridi, R., Zahra, A., Khan, K., and Idrees, M., 2011. Oncogenic Potential Of Human Papillomavirus (Hpv) And Its Relation With Cervical Cancer. *Virology Journal*. 8:269
- Ferwadi, S., Gunawan, R., Astuti, W., 2017. Studi *Docking* Molekular Senyawa Asam Sinamat Dan Derivatnya Sebagai Inhibitor Protein 1J4X Pada Sel Kanker Serviks. *Jurnal Kimia Mulawarman*. Volume 14 Nomor 2.
- GeLDenhuis, W,J., Gaasch Kevin E., Watson M., Allen David D., and Van der Schyf Cornelis J. 2006 . Optimizing the use of open-source software applications in drug discovery. *DDT*, 11 (3/4), 127-132
- Guedes, I.A., & Magalhães, C.S.D., Dardenne, L.E., 2014. Review : Receptor–Ligand Molecular *Docking*. *Biophys Rev* 6:75–87
- Guo, S., Colbert L.s, McGlothen, T.Z and Gonzalez-Perez R. R., 2012. Regulation of Angiogenesis in Human Cancer via Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2 Tumor Angiogenesis, Sophia Ran, IntechOpen, DOI: 10.5772/27370.

- Haliemariam, T., Yohannes, B., Aschenaki, H., Mamaye, E., Orkaido, G., and Seta, M., 2017. Prevalence Of Cervical Cancer And Associated Risk Factors Among Women Attending Cervical Cancer Screening And Diagnosis Center At Yirgalem General Hospital, Southern Ethiopia. *Journal Cancer Science & Therapy*. Volume 9 (11) 730-735
- Hamzah, N., Najib, A., Dan S, Fatmawati., 2014. Studi Farmakofor Reseptor Estrogen. *Jf Fik Uinam Vol.2 No.4*
- Hardjono, S., 2016. Prediksi Sifat Farmakokinetik, Toksisitas dan Aktivitas Sitotoksik Turunan *N-Benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea* sebagai Calon Obat Antikanker melalui Pemodelan Molekul. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, Vol. 14, No.2 hlm. 246-255
- Hattenschwiller, S and Vitousek, P. M. 2000. The Role of Polyphenols Interrestrial Ecosystem Nutrient Cycling. *Review PII: S0169-5347(00)01861-9 TREE vol. 15*
- Hevener KE, Zhao W, Ball DM, Babaoglu K, Qi J, White SW, *et al.* Validation of molecular *docking* programs for virtual screening against dihydropterolate synthase. *J Chem Inf Model*. 2009;49(2):444-60.
- Hewitt SC, Harrell JC, Korach KS. 2005. Lessons in estrogen biology from knockout and transgenic animals. *Annual review of physiology*. Volume 67:285–308.
- Hinchliffe, A., 2008. *Molecular Modeling for Beginners*. 2nd ed., Chichester : John Wiley and Sons Ltd.
- Hirchaud, F., Hermetet, F., Ablise, M., Fauconnet, S., Vuitton, D. A., Pr etet, J., Mougin, C., 2013. Isoliquiritigenin induces caspase-dependent apoptosis via downregulation of HPV16 E6 expression in cervical cancer Ca Ski cells. *Planta Med*. 79(17):1628-35

- Hoi, P.M., Li, S., Vong, C.T., Tseng, H.H.L., Kwan, Y.W., Lee, S.M-Y., 2015. Recent Advances In Structure-Based Drug Design And Virtual Screening Of Vegfr Tyrosine Kinase Inhibitors. *Methods*, 71, Pp. 85-91
- Hsu, Y.L., Kuo, P.L., Chiang, L.C., and Lin, C.C., 2004, *Isoliquiritigenin* Inhibits The Proliferation And Induces The Apoptosis Of Human Non-Small Cell Lung Cancer A549 Cells. *Clinical And Experimental Pharmacology And Physiology*. 31, 414–418
- Iwashita, K., Kobori, M., Yamaki, K., Tsushida, T., 2000. Flavonoids Inhibit Cell Growth And Induce Apoptosis In B16 Melanoma 4a5 Cells. *Bioscience Biotechnology And Biochemistry*. 64: 1813
- Jach, R., Dulinska-Litewka, J., Laidler, P., Szczudrawa, A., Kopera, A., Szczudlik, L., Pawlik, M., Zajac, K., Mak, M., Basta, A., 2010. Expression of VEGF, VEGF-C and VEGFR-2 in in situ and invasive SCC of cervix. *Frontiers in Bioscience*. E2, 411-423
- Kape, R., Parniske, M., Brandt, S., Werner, D., 1992. *Isoliquiritigenin*, A Strong Nod Gene- And Glyceollin Resistance-inducing Flavonoid From Soybean Root Exudate. *Appl Environ Microbiol* .;58:1705–1710. [Pubmed: 1622242]
- Kartasmita, R.E., Herowati, R., and Gusdinar, T., 2010. *Docking* Study Of Quercetin Derivatives On Inducible Nitric Oxide Synthase And Prediction Of Their Absorption And Distribution Properties. *Journal Of Applied Sciences* 10(23): 3098-3104.
- Katno, S dan Pramono, 2002, *Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat dan Obat Tradisional*, Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta.
- Keman, Kusnandar. 2014. *Patomekanisme Preeklamsia Terkini : Mengungkap teori teori terbaru tentang patomekanisme preeklamsia dilengkapi dengan deskripsi biomolekular*. Malang. UB Press
- Kesuma, D., Siswandon., Purwanto, B.T dan Hardjon S., 2018. Uji *In silico* Aktivitas Sitotoksik dan Toksisitas Senyawa Turunan *N*-(Benzoil)-*N'*-

Feniltiourea Sebagai Calon Obat Antikanker. *Journal Of Pharmaceutical Science And Clinical Research. Volume 1*

Khazanov, N.A and Carlson, H.A., 2013 Exploring the Composition of Protein-Ligand Binding Sites on a Large Scale. *PLoS Comput Biol* 9(11): e1003321. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1003321>

Kong L, Zhang Y, Pan X, Tan R, Cheng C, 2000. Inhibition Of Xanthine Oxidase By Liquiritigenin And Isoliquiritigenin Isolated From Sinofranchetia Chinensis. *Cell Mol Life Sci*;57:500–505. [Pubmed: 10823249]

Kotadiya, R., and George, J.J., 2015. *In silico* Approach To Identify Putative Drugs From Natural Products For Human Papillomavirus (Hpv) Which Cause Cervical Cancer. *Life Science Leaflets. Volume 25.*, Hal 1-13

Kumar, M.M., Davuluri, S., Poojar, S., Mukherjee, G., Bajpai, A.K., Bafna, U.D., Devi, U.K., Kallur, P. P. R., Kshitish, A. K., Jayshree, R. S., 2015. Role Of Estrogen Receptor Alpha In Human Cervical Cancer-Associated Fibroblasts: A Transcriptomic Study. *International Society Of Oncology And Biomarkers (Isobm)*

Kurnia Y., 2014, Farmakoterapi Mutakhir Keganasan. *J. Kedokteran Meditek* Vol. 20 No. 53.

Kusumaningrum, S., Budianto, E., Kosela, S., Sumaryono, W., Juniarti, F., 2014. The molecular *docking* of 1,4-naphthoquinone derivatives as inhibitors of Polo-like kinase 1 using Molegro Virtual Docker. *Journal of Applied Pharmaceutical Science. Vol. 4 (11)*, pp. 047-053

La, DS., Belzile, J., Bready, JV., Coxon, A., DeMelfi, T., Doerr, N., Estrada, J., Flynn, JC., Flynn, SR., Graceffa, RF., Harriman, SP., Larrow, JF., Long, AM., Martin, MW., Morrison, MJ., Patel, VF., Roveto, PM., Wang, L., Weiss, MM., Whittington, DA., Teffera, Y., Zhao, Z., Polverino, AJ., Harmange, JC., 2008. Novel 2,3-dihydro-1,4-benzoxazines as potent and orally bioavailable inhibitors of tumor-driven angiogenesis. *J Med Chem. 51(6)*:1695-705.

Levinson, W.E. 2008. *Review of Medical Microbiology and Immunology Tenth Edition*. San Fransisco. McGraw-Hill Education.

Liana, L.F.A, 2017. *Ektrak Metanolik Daun Rosemary (rosmarinus officinalis L.) sebagai Agen Kemopreventif Terhadap Sel Kanker Serviks (hela) Melalui regulasi Bcl-2*. [SKIRPSI]. Yogyakarta. Universitas Sanata Dharma

Likhitwitayawuid, K., Sornsute, A., Sritularak, B and Ploypradith P., 2006. Chemical transformations of *Oxyresveratrol* (trans-2,4,3,5 tetrahydroxystilbene) into a potent tyrosinase inhibitor and a strong cytotoxic agent. *Bioorganic Med. Chem.* 16: 5650-5653.

Lipinski, CA., Lombardo, F., Dominy, BW and Feeney, FJ., 1997. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews.* 23: 3-25.

Loddo, M., Kingsbury, Sr., Rashid, M., Proctor, I., Holt, C, Young, J., El-Sheikh, S., Falzon, M., Eward, Kl., Prevost, T., Sainsbury, R., Stoeber, K and Williams, Gh., 2009. Cell-Cycle-Phase Progression Analysis Identifies Unique Phenotypes Of Major Prognostic And Predictive Significance In Breast Cancer. *British Journal Of Cancer* .Vol 100, 959 – 970.

Lodish, H., Berk, A., Zipursky, S., Matsudaira, P., Baltimore, D and Darnell, J., 2000. *Molecular Cell Biology 4th Edition*. New York: W.H. Freeman Company.

Longatto-Filho A, Pinheiro C, Martinho O, Moreira MA, Ribeiro LF, Queiroz GS, Schmitt FC, Baltazar F, Reis RM. 2009. Molecular characterization of EGFR, PDGFRA and VEGFR2 in cervical adenosquamous carcinoma. *BMC Cancer* 9:212

Lorenz, P., Roychowdhury, S., Engelmann, M., Wolf, G., Horn, T.F.W., 2003. *Oxyresveratrol* and resveratrol are potent antioxidants and free radical scavengers: Effect on nitrosative and oxidative stress derived from microglial cells. *NitricOxide*. Volume 9, Issue 2. Hal 64-76

- Ma, J., Fu, N.Y., Pang, D.B., Wu, W.Y. and Xu, A.L., 2001. Apoptosis Induced By *Isoliquiritigenin* In Human Gastric Cancer Mgc-803 Cells. *Planta Med.* Vol 67
- Mahalingam, S., Gao, L., Eisner, J., Helferich, W., Flaws and Jodi, A., 2016. Effects of *Isoliquiritigenin* on ovarian antral follicle growth and steroidogenesis. *Reproductive Toxicology.* Vol 66 Hal 107–114
- Mala, S.K., Priya, A.P., Bincy B And Nazeem P.A., 2014. Bioactive Compounds To Target Anti Apoptotic Proteins- Bcl 2 And Bcl XI An *In silico* Approach. *Ijpsr* (2015), Vol. 6, Issue 7
- Marcou G and Rognan D., 2007. Optimizing fragment and scaffold *docking* by use of molecular interaction fingerprints. *Journal of Chemical Information and Modeling.* 47(1):195-207.
- Martel, C.D., Plummer, M., Vignat, J and Franceschi, S., 2017. WorLDwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type. *international Journal of Cancer* :141, 664–670
- Mealey, K. L., Waiting, D., Raunig, D. L., Schmidt, K. R., Nelson, F. R. Oral bioavailability of P-glycoprotein substrate drugs do not differ between ABCB1- 1Δ and ABCB1 wiLD type dogs. *J. vet. Pharmacol. Therap.* 33, 453–460.
- Meng, F. 2013. Molecular Dynamics Simulation of VEGFR2 with Sorafenib and Other Urea-Substituted Aryloxy Compounds. *Journal of Teoretical Chemistry.*
- Minggarwati, 2017. *Uji Aktivitas Antikanker dan Identifikasi Senyawa Aktif dari Fraksi Umbi Bawang Sabrang (Eluetherine palmifolia (L.) Merr.) Terhadap Sel Kanker Hela.* [SKRIPSI]. Malang. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
- Moga, M.A., Dimienescu, O.G., Arvatescu, C.A., Mironescu, A., Dracea, L., Ples L., 2016. The role of natural polyphenols in the preventions and treatment of cervical cancer-an overview. *Moleculs.* Volume 21. Nomor 1055:1-22

- Muchtaridi., Yannuar, A., Megantara, S., Purnomo, H., 2018. *Dasar-dasar dalam perancangan obat edisi pertama*. Jakarta. Prenadamedia Group
- Mumpuni, E., Nurrochmad, A., Jenie, U.A., Pranowo, H.D., 2015. Penapisan Virtual Dan Elusidasi Moda Ikatan Analog Kurkumin Pada Enzim Siklooksigenase-2 Menggunakan Protokol Ee_Cox2_V.1.0. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Vol. 13, No.2. Hlm. 235-241
- Murray and Hunt. 1993. *The cell cycle, an introduction*. New York: Oxford University Press
- Muslimin, 2014. *Pendidikan Agama Islam*, Yogyakarta: Deepublish
- Mutiah, R., Griana, T.P., Ma'arif, B., 2017. Chemoprevention Of Bawang Dayak/Sabrang (*Eleutherine Palmifolia* (L.) Merr.) Extracts To Colitis-Associated Colon Cancer Model As The Application Of Al Qur'an Surah Al-Baqoroh Verse 61. *Seminar Proposal Bantuan Penelitian Riset Kolaboratif Internasional*
- Mycek, M. J, Harvey, R.A. and Champe, P.C., 2001, *Farmakologi Ulasan Bergambar* 2nd ed. H. Hartanto, ed., Jakarta, Widya Medika.
- Narisawa-Saito, Mako and Kiyono, Tohru., 2007. Basic mechanisms of high-risk human papillomavirus-induced carcinogenesis: Roles of E6 and E7 proteins. *Cancer Sci*. Vol 98: 1505–1511
- Nelson, D., and Cox, M., 2001. *Lehninger Principles of Biochemistry 4th Edition* (86-117). Wisconsin: W.H.Freeman Company.
- Ng, H.W., Zhang, W., Shu, M., Luo, H., Ge, W., Perkins, R., Tong, W., Hong, H., 2014. Competitive molecular *docking* approach for predicting estrogen receptor subtype a agonists and antagonists. *BMC Bioinformatics*. Vol.15(Suppl 11)
- Nilsson S, Makela S, Treuter E, Tujague M, Thomsen J, Andersson G, 2001. Mechanisms of estrogen action. *Physiol Rev*. ;81:1535–1565

- Nilsson, S., Kela, S.M., Treuter, E., Tujague, M., Thomsen, J., Andersson, G. R., Enmark, E., Pettersson, K., Warner, M., and Gustafsson, J.Å., 2001. Mechanisms of estrogen action. *Physiol. American Psychological society*. Volume 81 : 1535-1565
- OLDoni, T.L.C., Cabral, I.S.R., d'Arce, M.A.B. Regitano., Rosalen, P.L., Ikegaki, M., Nascimento, A.M., Alencar, S.M., 2011. Isolation And Analysis Of Bioactive Isoflavonoids And Chalcone From A New Type Of Brazilian Propolis. *Separation And Purification Technology*. 77. 208-213.
- Pan, X., Kong, L., Zhang, Y., Cheng, C., and Tan, R.. 2000. In Vitro Inhibition Of Rat Monoamine Oxidase By Liquiritigenin And *Isoliquiritigenin* Isolated From *Sinofranchetia Chinensis*. *Acta Pharmacol Sin.* Vol 21:949-953. [Pubmed: 11501051]
- Pandian, S., P, Senthilraja and S, Kalavathy., 2012. In-Silico *Docking* Analysis Of *Calotropis Gigantea* (L.) R.Br Derived Compound Against Anti-Cervical Cancer Activity. *Journal of Computer-Aided Drug Design Volume 1, Issue 1*
- Perez, H. L., Banfi, P., Bertrand, J. A., Cai, Z.-W., Grebinski, J. W., Kim, K., Lippy, J., Modugno, M., Naglich, J., Schmidt, R. J., Tebben, A., Vianello, P., Wei, D. D., Zhang, L., Galvani, A., Lombardo, L. J., Borzilleri, R. M., 2012. Identification of a phenylacetylsulfonamide series of dual Bcl-2/Bcl-xL antagonists. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 22:3946-3950.
- Pires, D.E.V., Blundell, T.L., and Ascher, D.B., 2015. pkCSM: Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures. *Journal of Medical Chemistry*. Vol 58. Hal. 4066-4072
- Prasojo, SL., Hartanto, FA., Yuniarti, N., Ikawati, Z., Istyastono, EP., 2010. *Docking* of 1-Phenylsulfonamide- 3Trifluoromethyl-5-parabromophenyl-pyrazole to cyclooxygenase-2 using PLANTS. *Indonesian Journal of Chemistry*. 10(3):348-51.
- Pratama, M.R.F., 2016. Studi *Docking* Molekular Senyawa Turunan Kuinolin Terhadap Reseptor Estrogen-A. *Jurnal Surya Medika* Volume 2 No. 1
- Prawirohardjo, S. 2010. *Buku Acuan Nasional Onkologi 10. 11. 12. 13.Ginekologi*. Jakarta, Indonesia: YBP-SP.

- Priyanto, 2007, Toksisitas radikal bebas, Dalam: Sunaryo H.ED, *Toksisitas Obat, Zat kimia dan terapi antidotum*. Edisi ke 1. Depok, Leskonfi, 43-54.
- Ramadan M, Kamel M, Ohtani K, Kasai R, Yamasaki K. 2000. Minor Phenolics From *Crinum Bulbispermum* Bulbs. *Phytochemistry*;54:891–896. [Pubmed: 11014284]
- Ramakrisnan, S., Partricia, S., Mathan, G., 2015. Overview of high-risk HPV's 16 and 18 infected cervical cancer: Pathogenesis to prevention. *Biomedicine & Pharmacotherapy* .Volume 70 Hal 103–110
- ReisfeLD, B. and Mayeno, A. N. 2012. *Computational Toxicology*. Volume I. New York. Humana Press.
- Rizzo, D.C. 2016. *Fundamentals of anatomy and physiologi, fourth edition*. Boston. Cengage Learning
- Ruswanto, 2015. *Molecular Docking Empat Turunan Isonicotinohydrazide Pada Mycobacterium Tuberculosis Enoyl-Acyl Carrier Protein Reductase (InhA)*. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada* .Volume 13 Nomor 1
- Ruswanto, S., Richa,M., Tita, N., Tresna, L.,2017. Molecular Docking of *1-Benzoyl-3-methylthiourea* as Anti Cancer Candidate and Its Absorption, Distribution, and Toxicity Prediction, *Journal of Pharmaceutical Science and Research*, Vol. 9(5), Hal 680-684.
- Sak, K. 2014. Characteristic Features of Cytotoxic Activity of Flavonoids on Human Cervical Cancer Cells. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, Vol 15. :8007-8018
- Sangsen, Y., Sooksawate, T., Likhitwitayawuid, K., Sritularak, B., Wiwattanapatpee, R., 2018. A Self-Microemulsifying Formulation of *Oxyresveratrol* Prevents Amyloid Beta Protein-Induced Neurodegeneration in Mice. *Planta med.*

- Sasaki, Y., Iwanari, O., Arakawa, I., Moriya, T., Mikami, Y., Iihara, K., and K, Ryo., 2017. Cervical Cancer Screening With Human Papillomavirus Dna And Cytology In Japan. *International Journal Of Gynecological Cancer*. Volume 27, Number 3
- Schlick, T., 2010. *Molecular Modeling and Simulation, A Interdisciplinary Guide*. 2nd ed., New York: Springer Science+Business Media
- Seno, D.W.H, Mochtar, C.A., Umbas, R., 2011. Terapi Sistemik Terkini pada Karsinoma Sel Ginjal Metastatik. Terapi Sistemik Terkini pada Karsinoma Sel Ginjal Metastatik. *Indonesian Journal of Cancer Vol. 5, No. 3*
- Setiawan, F. F., Istyastono, E P., 2015. Uji *In silico* Senyawa 2,6-Dihidroksiantraquinon Sebagai Ligan Pada Reseptor Estrogen Alfa. *Jurnal Farmasi Sains Dan Komunitas*. Vol. 12 No. 2. Hlm. 77-80
- Setiawan, S.D., 2015. The Effect Of Chemotherapy In Cancer Patient To Anxiety. *J Majority*. Volume 4 Nomor 4. Hal. 94-99
- Shai, A., Brake, T., Somoza, C. and Lambert, P.F., 2007. The Human Papillomavirus E6 Oncogene Dysregulates the Cell Cycle and Contributes to Cervical Carcinogenesis through Two Independent Activities. *Cancer Res*. Volume 67 (4). Hal 1626- 1635
- Shibuya, M., 2011. Vascular Endothelial Growth Factor (Vegf) And Its Receptor (Vegfr) Signaling In Angiogenesis: A Crucial Target For Anti- And Pro-Angiogenic Therapies. *Mongraph Genes & Cancer*. Vol 2 No 12
- Shihab, Q. 2002. *Tafsir Al-misbah pesan, kesan, dan keserasian Al-Quran Volume II*. Jakarta:Lentera Hati
- Siswandono, 2016. *Kimia Medisinal 1: Edisi kedua*. Surabaya. Airlangga University Press

- Sulaiman, S.N., Mat-Isa, N.A., Othman, N.H., Ahmad, F., 2015. Improvement of Features Extraction Process and Classification of Cervical Cancer for the NeuralPap System. *Procedia Computer Science* .Volume 60: hal 750 – 759
- Supandi., Yeni., Merdekawati F., 2018. In Silico Study of Pyrazolylaminoquinazoline Toxicity by Lazar, Protox, and Admet Predictor. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* .Vol. 8(09), pp 119-129
- Sur, T, 2014. The Role of HPV 16 E5 Protein and Its Interacting Partners in Cervical Cancer Cases. *Journal of Tumor*. 2(7): 179-186
- Tang, Y.& Marshall, G., 2011. *Drug Design and Discovery: Virtual Screening for Lead Discovery (1-5)*. New York. Humana Press
- Thomsen., R and Christensen, MH., 2006. *MolDock: A New Technique for High-Accuracy Molecular Docking*. *J Med Chem*. 49(11): 3315-3321.
- Tsai, T.-C and Chen, S.-L, 2003. The biochemical and biological functions of human papillomavirus type 16 E5 protein. *Archives Virology*, Volume 148:1445-1453
- Ugale, V.G., Patel, H.M., Surana, S.J., 2017. Molecular modeling studies of quinoline derivatives as VEGFR-2 tyrosine kinase inhibitors using pharmacophore based 3D QSAR and docking approach. *Arabian Journal of Chemistry*. 10, S1980–S2003
- Virgili *et al.*, 2004. Nutritional flavonoids modulate estrogen reseptor α signaling. *IUBMB Life*. Volume 56, Nomor 3: 145-151
- Wang, J.Y., Yeh, C.L., Chou, H.C., Yang, C.H., Fu, Y.N., Chen, Y.T., Cheng, H.W., Huang, C.Y.F., Liu, H.P., Huang, S.F., and Chen, Y.R. 2011. Vaccinia H1-related Phosphatase Is a Phosphatase of ErbB Receptors and Is Down-regulated in Non-small Cell Lung Cancer. *The Journal Of Biological Chemistry* Vol. 286, No. 12, hal 10177–10184

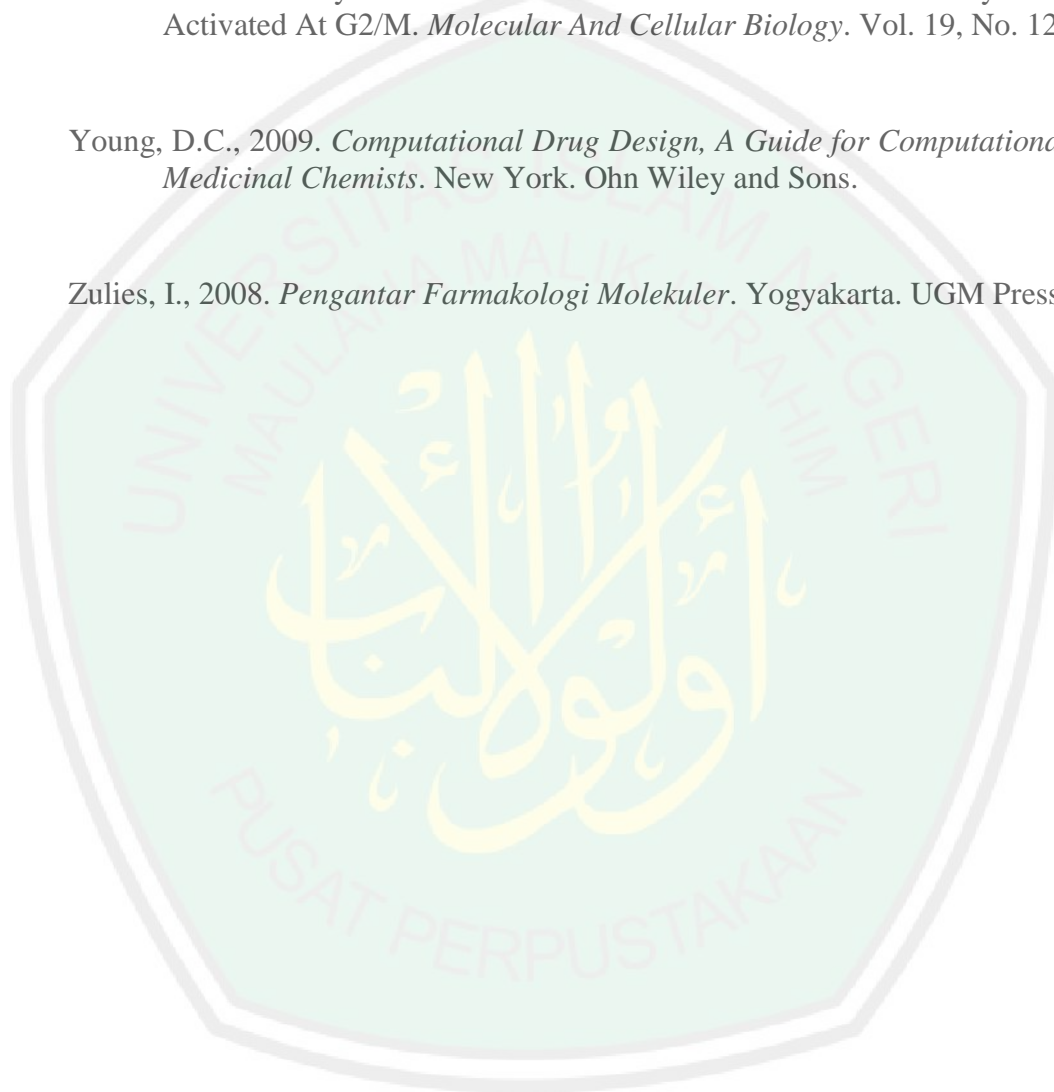
- Wang, Z., Wang, N., Liu, P., Chen, Q., Situ, H., Xie, T., Zhang, J., Peng, C., Lin, Y., Chen, J., 2014. MicroRNA-25 regulates chemoresistance-associated autophagy in breast cancer cells, a process modulated by the natural autophagy inducer isoliquiritigenin. *Oncotarget*. ;5:7013–7026
- Wang, Z., Wang, N., Han, S., Wang, D., Mo, S., Yu, L., Huang, H., Tsui, K., Shen, J., Chen, J., 2013. Dietary Compound *Isoliquiritigenin* Inhibits Breast Cancer Neoangiogenesis via VEGF/VEGFR-2 Signaling Pathway. *PLOS ONE*. Volume 8. Issue 7
- Weyhenmeyer, B., Murphy, A.C., Prehn, J.H.M., & Murphey, B.M., 2012. Targeting the anti-apoptotic Bcl-2 Family Members for the Treatment of cancer. *Experimental Oncology*. 34(3) 192-199
- Wijaya C. A Dan Muchtaridi M, 2017. Pengobatan Kanker Melalui Metode Gen Terapi. *Jurnal Farmaka*. Volume 15 Nomor 1.
- Williams G H and Stoeber K, 2012. The cell cycle and cancer. *Journal of Pathology* Volume. 226: 352–364
- Wu S., Vossius, S., Rahmouni, S., Miletic, A.V., Vang, T., Vazquez R.J., Cerignoli, F., Arimura, Y., Williams, S., Hayes, T, Moutschen, M., Vasile, S., Pellicchia, M., Mustelin, T., and Tautz, L., (2009). Multidentate Small-Molecule Inhibitors of Vaccinia H1-Related (VHR) Phosphatase Decrease Proliferation of Cervix Cancer Cells. . *Medical Chem*. Vol 52, 6716–6723
- Wu, C.H., Chen, H.Y., Wang, C.W., Shieh, T.M., Huang, S., Lin, L.C., Wang, K.L., Hsia, S.M., 2016. *Isoliquiritigenin* Induces Apoptosis And Autophagy And Inhibits Endometrial Cancer Growth In Mice. *Oncotarget*, Vol. 7, No. 45
- Xiong, Y., D.A. Guo and H.L. Huang, 2008. Chemical constituents from tubers of *Smilax china* L. *Modern Chinese Med.*, 10: 20-22.
- Xu, L., liu, C., Xiang, W., Chen, H., Xin, Q., Huan, X., 2014. Advances in the study of *Oxyresveratrol*. *International of journal pharmacology*. 10(1): 44-54

Yahalom, R., Reshef, D., Wiener, A., Frankel, S., Kalisman, N., Lerner, B., Keasar, C., 2011. Structure-based identification of catalytic residues. *Proteins* 79: 1952–1963.

Yamamoto, K., Ichijo H, Korsmeyer A.S.J., 1999. Bcl-2 Is Phosphorylated And Inactivated By An Ask1/Jun N-Terminal Protein Kinase Pathway Normally Activated At G2/M. *Molecular And Cellular Biology*. Vol. 19, No. 12

Young, D.C., 2009. *Computational Drug Design, A Guide for Computational and Medicinal Chemists*. New York. Ohn Wiley and Sons.

Zulies, I., 2008. *Pengantar Farmakologi Molekuler*. Yogyakarta. UGM Press



LAMPIRAN

LAMPIRAN 1. Hasil Analisis Statistik ANOVA Pada reseptor 4AQ3 (E)

ANOVA

RerankScore

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3322,932	2	1661,466	39,553	,000
Within Groups	252,036	6	42,006		
Total	3574,968	8			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: RerankScore

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Pembading BCL-2	Isoliquiritigenin BCL-2	-44,670333*	5,291879	,000	-57,61910	-31,72157
	Oxyresveratrol BCL-2	-35,176000*	5,291879	,001	-48,12476	-22,22724
Isoliquiritigenin BCL-2	Pembading BCL-2	44,670333*	5,291879	,000	31,72157	57,61910
	Oxyresveratrol BCL-2	9,494333	5,291879	,123	-3,45443	22,44310
Oxyresveratrol BCL-2	Pembading BCL-2	35,176000*	5,291879	,001	22,22724	48,12476
	Isoliquiritigenin BCL-2	-9,494333	5,291879	,123	-22,44310	3,45443

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

LAMPIRAN 2. Hasil Analisis Statistik ANOVA Pada reseptor 2RL5**ANOVA**

RerankScore

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5754,316	2	2877,158	490,048	,000
Within Groups	35,227	6	5,871		
Total	5789,543	8			

Multiple Comparisons

Dependent Variable: RerankScore

LSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval Lower Bound	Upper Bound
Pembanding VEGFR-2	Isoliquiritigeinin VEGFR-2	-55,969667*	1,978414	,000	-60,81067	-51,12866
	Oxyresveratrol VEGFR-2	-50,956667*	1,978414	,000	-55,79767	-46,11566
Isoliquiritigeinin VEGFR-2	Pembanding VEGFR-2	55,969667*	1,978414	,000	51,12866	60,81067
	Oxyresveratrol VEGFR-2	5,013000*	1,978414	,044	,17200	9,85400
Oxyresveratrol VEGFR-2	Pembanding VEGFR-2	50,956667*	1,978414	,000	46,11566	55,79767
	Isoliquiritigeinin VEGFR-2	-5,013000*	1,978414	,044	-9,85400	-,17200

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



KEMENTERIAN AGAMA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
JURUSAN FARMASI

Jl. Ir. Soekarno No.34 Dadaprejo Batu, Telepon (0341) 577033 Faksimile (0341) 577033
 Website: <http://fkik.uin-malang.ac.id> E-mail: fkik@uin-malang.ac.id

LEMBAR PERSETUJUAN PERBAIKAN (REVISI) UJIAN SKRIPSI

Naskah ujian skripsi yang disusun oleh:

Nama : Muhammad Fawwaz Hariz
 NIM : 15670015
 Judul : Uji Sitotoksik, Toksisitas dan Prediksi Sifat Fisikokimia Senyawa Isoliquiritigenin dan Oxyresveratrol Terhadap Reseptor *B Cell Lymphoma-2* (4AQ3) dan *Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2* (2RL5) Sebagai Terapi Kanker Serviks Secara In Silico

Tanggal Seminar Hasil : 9 April 2019

Telah dilakukan perbaikan sesuai dengan saran tim pembimbing dan tim penguji serta diperkenankan untuk melanjutkan ke tahap penelitian.

No	Nama Penguji	Tanggal Revisi	Tanda Tangan
1	Burhan Ma'arif ZA., M.Farm., Apt	15 - April 2019	
2	Abdul Hakim, M.P.I., M.Farm., Apt	16 - April 2019	
3	Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt	15 - April 2019	
4	Yen Yen Ari indrawijaya., M.Farm.Klin., Apt	12 April 2019	

Catatan :

1. Batas waktu maksimum melakukan revisi 2 Minggu. Jika tidak selesai, mahasiswa TIDAK dapat mendaftarkan diri untuk mengikuti Yudisium
2. Lembar revisi dilampirkan dalam naskah skripsi yang telah dijilid, dan dikumpulkan di Bagian Administrasi Jurusan Farmasi selanjutnya mahasiswa berhak menerima Bukti Lulus Ujian Skripsi.

Malang,
 Ketua Jurusan Farmasi

Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt
 NIP. 19800203 200912 2003