

**PENENTUAN SIFAT FISIKOKIMIA DAN AKTIVITAS SITOTOKSIK
SENYAWA GENDARUSIN A-E TERHADAP RESEPTOR *ESTROGEN*
ALFA (2JF9) PADA KANKER PAYUDARA *IN SILICO***

SKRIPSI

Oleh :

NUR IKA OCTAVIA

NIM. 15670022



PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN

UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM

MALANG

2019

**PENENTUAN SIFAT FISIKOKIMIA DAN AKTIVITAS
SITOTOKSIK SENYAWA GENDARUSIN A-E TERHADAP RESEPTOR
*ESTROGEN ALFA (2JF9) PADA KANKER PAYUDARA IN SILICO***

SKRIPSI

Oleh:
NUR IKA OCTAVIA
NIM. 15670022

Diajukan Kepada:
Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Islam Negeri (UIN) 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

**PENENTUAN SIFAT FISIKOKIMIA DAN AKTIVITAS SITOTOKSIK
SENYAWA GENDARUSIN A-E TERHADAP RESEPTOR *ESTROGEN*
ALFA (2JF9) PADA KANKER PAYUDARA *IN SILICO***

SKRIPSI

Oleh :
NUR IKA OCTAVIA
NIM. 15670022

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal 26 Desember 2019:

Pembimbing I

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

Pembimbing II

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

**PENENTUAN SIFAT FISIKOKIMIA DAN AKTIVITAS SITOTOKSIK
SENYAWA GENDARUSIN A-E TERHADAP RESEPTOR ESTROGEN
ALFA (2JF9) PADA KANKER PAYUDARA *IN SILICO***

SKRIPSI

Oleh :
NUR IKA OCTAVIA
NIM. 15670022

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)
Tanggal: 26 Desember 2019

Ketua Penguji : Yen Yen Ari I, M.Farm.Klin., Apt. (.....)
NIDT. 19930130 20180201 1 203
Anggota Penguji : Burhan Ma'arif Z.A, M.Farm., Apt. (.....)
NIP. 19900221 201801 1 001
Dr.Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt. (.....)
NIP. 19800203 200912 2 003
Ach. Nasichuddin, M.A. (.....)
NIP. 19730705 200003 1 002

Mengesahkan,
Ketua Program studi Farmasi



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

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nur Ika Octavia

NIM : 15670022

Jurusan : Farmasi

Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan

Judul Penelitian : Penentuan Sifat Fisikokimia Dan Aktivitas Sitotoksik Senyawa Gendarusin A-E Terhadap Reseptor *Estrogen Alfa* (2JF9) Pada Kanker Payudara *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, 26 Desember 2019
Yang Membuat pernyataan



Nur Ika Octavia
15670022

MOTTO

Satu Obat Untuk Keselamatan Nyawa

Kegagalan Adalah Langkah Awal Untuk Mencapai Sebuah Kesuksesan

Yang Hebat



LEMBAR PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'alamin

Dengan senantiasa memanjatkan puji syukur kehadirat Allah SWT beserta Nabi Muhammad SAW sehingga dapat terselesaikan skripsi ini.

Dengan rasa syukur yang mendalam, kupersembahkan karya tulis sederhanaku ini kepada:

1. Kedua orang tuaku, Ayah Khoirul Anwar dan Ibu Siti Sofiah yang senantiasa memberi dukungan dalam bentuk doa, semangat, dan kasih sayang yang tak pernah putus, sehingga ika bisa menyelesaikan skripsi dengan lancar.
2. Kedua adikku Cahya Rahmat Sakbana dan M.Fajri Al-Kamil yang selalu mendukung dan mendoakan saya selama ini.
3. Kepada Ahmad Ariful Fatoni, yang telah menemani selama proses pengerjaan skripsi, dukungan dan perhatian yang diberikan selama ini.
4. Terimakasih kepada Bapak Weka Sidha Bhagawan, M.farm., Apt yang sudah membimbing pada awal skripsi, Ibu Dr.Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt, dan Ibu Yen Yen Indrawijaya, M.Farm.Klin., Apt sebagai pembimbing, Bapak Burhan Ma'arif Z.A, M.Farm., Apt sebagai penguji utama, dan Bapak Ach. Nasichuddin, M.A sebagai penguji agama.
5. Terimakasih yang tak terhingga kepada teman-teman Pharmajelly yang telah memberikan dukungan dan semangat selama ini.
6. Terimakasih buat ciwi-ciwiku tersayang Beta, Risma, Renza, Iis, dan Nisa yang selalu mendukung, memberi semangat, dan tauiyah agar segera menyelesaikan skripsi.
7. Kepada semua pihak yang telah membantu terselesainya skripsi ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

ABSTRAK

Octavia, N.I. 2019. Penentuan Sifat Fisikokimia Dan Aktivitas Sitotoksik Senyawa Gendarusin A-E Terhadap Reseptor *Estrogen Alfa* (2JF9) Pada Kanker Payudara *In Silico*

Pembimbing (I): Dr. Roihatul Mutia'ah, M.Kes., Apt

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

Estrogen Alfa (ER α) merupakan reseptor yang digunakan sebagai penanda utama untuk mengidentifikasi adanya tumor dibagian payudara. Senyawa *gendarusin A-E* mempunyai aktivitas sebagai antikanker dengan cara menghambat proliferasi sel kanker dan menginduksi apoptosis. Penelitian ini bertujuan untuk memprediksi aktivitas sitotoksik, sifat fisikokimia, dan toksisitas dari senyawa *gendarusin A-E*. Prediksi sifat fisikokimia diuji dalam pemenuhan Hukum Lima Lipinski dan hasil dari proses ADME (absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi) dengan menggunakan aplikasi *pkCSM Online tool*. Prediksi aktivitas sitotoksik menggunakan Molegro Virtual Docker (MVD) dengan melakukan validasi reseptor dan molekuler docking. Protein reseptor kanker yang digunakan *Estrogen Alfa* dengan kode pdb 2JF9. Prediksi toksisitas menggunakan aplikasi *Protox II Online tool*. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa senyawa *gendarusin A-E* belum memenuhi Hukum Lima Lipinski. Senyawa *gendarusin A-E* memiliki aktivitas terhadap reseptor *Estrogen Alfa* yang ditunjukkan dengan hasil RMSD <2 dan senyawa *gendarusin A* mempunyai *Rerank Score* paling kecil yaitu -70,9817 dibandingkan senyawa lainnya yang berarti mempunyai aktivitas yang tinggi. Senyawa *gendarusin B* mempunyai LD₅₀ paling tinggi yaitu 1212 mg/kg dan tergolong dalam kelas 4 yang berarti mempunyai toksisitas rendah.

Kata Kunci: *Gendarusin A-E*, Kanker Payudara, *Estrogen Alfa* (ER α), Aktivitas Sitotoksik, *Moleculer Docking*.

ABSTRACT

Octavia, N.I. 2019. Determination of Physicochemical Properties and Cytotoxic Activity of Gendarusin A-E Compounds Against *Estrogen Alpha* Receptors (2JF9) on Breast Cancer *In Silico*.

Mentor(I): Dr. Roihatul Mutia'ah, M.Kes., Apt

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

Estrogen Alpha is a receptor used as a primary marker to identify the presence of breast cancer. *Gendarusin A-E* are compounds that had anticancer activity by inhibiting the poliferation of cancer cells and inducing poptosis. The purpose of this research are to predict physicochemical properties, cytotoxic activity, and toxicity of *Gendarusin A-E* compound. Prediction of physicochemical properties is based on the criteria of the five Lipinski rules and the results of ADME process (Absorbtion, Distribution, Metabolism, and Excretion) using pkCSM Online Tool. The protein of cancer receptor used in *Estrogen Alpha* with pdb code 2JF9. Prediction of citotoxic activity using *Molegro Virtual Docker* (MVD) by validating receptors and moleculer docking. Prediction of toxicity using *Protox II Online Tool*. The results of this research were *Gendarusin A-E* compound didnt complete the criteria of five Lipinski rule. Gendarusin A-E have activity againts *Estrogen Alpha* receptor which the reseult of RMSD $<2 \text{ \AA}$, that is 0.81054 \AA . *Gendarusin A* compound have the lowest *Rerank score* than another compound, that is -70, 9817 taht mean has high activity, and *gendarusin B* have the highest LD₅₀ 1213 mg/kg score than another and clasified in class 4 that mean has the lowest toxicity.

Keywords: Gendarusin A-E, Breast Cancer, *Estrogen Alpha* (ER α), Citotoxic activity, *Moleculer Docking*.

الملخص

اوكتافيا، ن.إ. 2019. *In Silico* لمركبات *Gendarusin A-E* لمستقبلات ألفا استروجين (ER α) في سرطان الثدي.

المشرف (1): الدكتورة روهاتال مطيع

(2): الين ين آري إن دراويجايا الماجستير

هرمون الاستروجين ألفا (ER α) هو مستقبل يستخدم كعلامة أولية لتحديد وجود الأورام في الثدي. مركبات *Gendarusin A-E* لها نشاط مضاد للسرطان عن طريق تثبيط تعدد الخلايا السرطانية وتحفيز موت الخلايا المبرمج ، وتهدف هذه الدراسة إلى التنبؤ بنشاط السمية الخلوية ، والخصائص الفيزيائية والكيميائية ، وسمية مركب *Gendarusin A-E*. تم اختبار تنبؤات الخواص الفيزيائية والكيميائية وفقاً لقوانين Lipinski الخمسة ونتائج عملية ADME (الامتصاص ، التوزيع ، التمثيل الغذائي ، والإفراز) باستخدام تطبيق أداة pkCSM Online. التنبؤ بنشاط السموم الخلوية باستخدام (Molegro Virtual Docker (MVD) من خلال التحقق من صحة المستقبلات والالتحام الجزيئي. بروتين مستقبلات السرطان الذي تستخدمه Estrogen Alfa مع رمز pdb 2JF9. تنبأ السمية باستخدام أداة Protox II Online.

تشير نتائج هذه الدراسة إلى أن مركب *Gendarusin A-E* يجتمع مع قوانين Lipinski الخمسة. يكون لمركبات *Gendarusin A-E* نشاط ضد مستقبلات هرمون الاستروجين ألفا والتي تظهر من خلال نتائج RMSD > 2 ومركبات *Gendarusin A* لديها أقل درجة لإعادة الترتيب مقارنة بالمركبات الأخرى. تحتوي مركبات *Gendarusin B* على أعلى LD50 وتصنف في الفئة 4.

الكلمات الرئيسية: *Gendarusin A-E* ، سرطان الثدي ، ألفا الاستروجين (ER α) ، النشاط السام للخلايا ، الإرساء الجزيئي.

KATA PENGANTAR

Assalamua'alaikum Wr. Wb

Puji syukur alhamdulillah kepada Allah SWT berkat Rahmat, Hidayah, dan Karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal skripsi dengan judul **“PENENTUAN SIFAT FISIKOKIMIA DAN AKTIVITAS SITOTOKSIK SENYAWA GENDARUSIN A-E TERHADAP RESEPTOR *ESTROGEN ALFA (2JF9)* PADA KANKER PAYUDARA *IN SILICO*”**. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mengerjakan skripsi pada program Strata-1 di Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Penulis menyadari dalam penyusunan proposal skripsi ini tidak akan selesai tanpa adanya bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag, selaku rektor UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Prof. Dr. Dr. Bambang Pardjianto, Sp. V., Sp. BP-REK (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt selaku Ketua Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dr. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Apt dan Yen Yen Ari Indrawijaya, M.Farm.Klin., Apt selaku dosen pembimbing yang senantiasa memberikan pengarahan, saran, dan motivasi yang membangun.
5. Segenap Dosen Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
6. Ayah dan Ibu, serta adik-adik penulis yang senantiasa mendukung dan memberikan doa dalam meraih cita-citanya.
7. Sahabat-sahabat terdekat penulis yang senantiasa mendampingi dan memberi dukungan.

Penulis menyadari bahwa proposal skripsi ini tidak luput dari berbagai kekurangan. Penulis mengharapkan saran dan kritik demi kesempurnaan dan perbaikannya sehingga akhirnya proposal skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi bidang pendidikan dan penerapan dilapangan serta bisa dikembangkan lagi lebih lanjut. Amiin.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, 10 Desember 2019

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	
HALAMAN PENGAJUAN	
HALAMAN PENGESAHAN	
HALAMAN PERNYATAAN	
MOTTO	
LEMBAR PENGESAHAN	
KATA PENGANTAR.....	i
DAFTAR ISI.....	ii
DAFTAR GAMBAR.....	v
DAFTAR TABEL	vi
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.5 Batasan Masalah.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
2.1 Pengembangan Ilmu Pengetahuan dalam Prespektif Islam	8
2.2 Tinjauan <i>Justicia gendarussa</i> (Burm f).....	9
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi <i>Justicia gendarussa</i> (Burm f).....	9
2.2.2 Kandungan Kimia Tanaman	9
2.2.2.1 Tinjauan Flavonoid dalam <i>Justicia gendarussa</i>	15
2.3 Tinjauan Kanker.....	16
2.4 Kanker Payudara	16
2.4.1 Anatomi Fisiologi	17
2.4.1.1 Anatomi Payudara.....	17
2.4.1.2 Fisiologi Payudara.....	17
2.4.2 Patofisiologi Kanker Payudara.....	18
2.4.3 Patogenesis Kanker Payudara	19

2.4.4 Pembagian Stadium Kanker Payudara	20
2.4.5 Jenis Kanker Payudara	21
2.5 Metode <i>In Silico</i>	22
2.6 Molegro Virtual Docker	23
2.7 Hormon Estrogen	23
2.7.1 Reseptor Estrogen	24
2.7.2 Reseptor Estrogen α	26
2.7.3 Asam Amino Penyusun Reseptor	26
2.8 Ikatan Obat dengan Reseptor	27
2.8.1 Ikatan Kovalen	27
2.8.2 Ikatan Ion	27
2.8.3 Ikatan Hidrogen.....	28
2.8.4 Ikatan Van Der Waals	28
2.8.5 Interaksi Ion-dipol dan Dipol-dipol	28
2.8.6 Ikatan Hidrofob	29
2.8.7 Transfer Muatan.....	29
2.9 Aktivitas Sitotoksik.....	30
2.10 Toksisitas	30
2.11 Hukum Lima Lipinski	31
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS	33
3.1 Kerangka Konseptual	33
3.2 Uraian Skema Kerangka Konseptual	33
3.3 Hipotesis.....	35
BAB IV METODE PENELITIAN	36
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	36
4.2 Waktu dan Tempat Penelitian	36
4.2.1 Waktu Penelitian	36
4.2.2 Tempat Penelitian	36
4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional	36
4.3.1 Variabel Penelitian.....	37
4.3.1.1 Variabel Bebas.....	37
4.3.1.2 Variabel Tergantung	37

4.3.1.3 Variabel Kontrol	37
4.3.2 Definisi Operasional.....	36
4.4 Alat dan Bahan Penelitian.....	38
4.4.1 Alat.....	38
4.4.2 Bahan	38
4.5 Skema Kerja dan Prosedur Penelitian.....	40
4.5.1 Skema Kerja.....	40
4.5.2 Prosedur Penelitian	41
BAB V HASIL DAN PENELITIAN.....	45
5.1 Molegro Virtual Docker.....	45
5.2 Interpretasi Data dengan Hasil.....	45
5.2.1 Pengunduhan Protein Reseptor	45
5.2.2 Pembuatan Struktur Dua Dimensi (2D) dan Tiga Dimensi (3D).....	45
5.2.3 Pembuatan Code SMILES dan Penentuan Energi Minimal	46
5.2.4 Prediksi Sifat Fisikokimia.....	49
5.2.5 Proses Docking dan Analisis Asam Amino	57
5.2.5.1 Preparasi Protein Estrogen Alfa.....	57
5.2.5.2 Penentuan <i>Cavity</i> (Lubang).....	58
5.2.5.3 Validasi Reseptor Estrogen Alfa.....	59
5.2.5.4 Docking Score.....	60
1. Hasil Docking Senyawa <i>Gendarusin A-E</i> dan <i>Tamoxifen</i> pada Reseptor Estrogen Alfa	60
2. Penentuan Energi Ikatan	64
5.2.5.5 Interaksi Ligan dan Asam Amino	62
5.2.6 Prediksi Toksisitas secara <i>In Silico</i>	68
5.1 Metode <i>In Silico</i> dalam Prespektif Islam.....	70
BAB VI PENUTUP	72
6.1 Kesimpulan	72
6.2 Saran.....	72
DAFTAR PUSTAKA.....	73

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Tanaman <i>Justicia gendarussa</i>	9
Gambar 2.2 Struktur umum flavonoid	12
Gambar 2.3 Struktur 6,8-di-C- α -L-arabinocyl- 4',5,7 trihidroxy-flavon (Gendarusin A)	13
Gambar 2.4 Struktur -C- α -L-arabinopyranocyl-4',5,7- trihidroxy-8-C- β -D- cyllopyranocylflavone C (Gendarusin B)	13
Gambar 2.5 Struktur 5,7-dihydroxy, 2-(4-hydroxypenyl)-8-((2S,3S,4R)-3,4,5- trihydroxytetrahydro-2H-pyran-2-yl)-6((2S,3S,4S,5S)-3,4,5,- trihydroxytetrahydro-2H-pyran-2-yl)-4H-chromen-4-one (Gendarusin C)	14
Gambar 2.6 Struktur 5,7-dihydroxy, 2-(4-hydroxypenyl)-6-((2S,3R,4S,5S)-3,4,5- trihydroxytetrahydro-2H-pyran-2-yl)-8((2S,3S,4R,5R)-3,4,5,- trihydroxytetrahydro-2H-pyran-2-yl)-4H-chromen-4-one Gendarusin D)	14
Gambar 2.7 Struktur 5,7-dihydroxy, 2-(4-hydroxypenyl)-8-((2S,3R,4R,5R)-3,4,5- trihydroxytetrahydro-2H-pyran-2-yl)-6((2S,3R,4S,5S)-3,4,5,- trihydroxytetrahydro-2H-pyran-2-yl)-4H-chromen-4-one (Gendarusin E).....	15
Gambar 2.8 Proses perubahan epitel payudara normal hingga menjadi kanker.....	20
Gambar 2.9 Alur kerja aplikasi <i>pkCSM tool</i>	32
Gambar 3.1 Kerangka konseptual	33
Gambar 4.1 Struktur Tiga Dimensi Gendarusin A – E	39
Gambar 4.2 (A) Struktur 3 dimensi <i>Estrogen Alfa</i> (ER α), (B) Struktur 3 dimensi <i>Estrogen Alfa</i> (ER α) dengan <i>cavity</i>	39
Gambar 4.3 Skema Kerja	40
Gambar 5.1 Struktur Tiga Dimensi Senyawa <i>Gendarusin A-E</i>	46
Gambar 5.2 Reseptor <i>Estrogen Alfa</i> (ER α).....	58
Gambar 5.3 Penentuan <i>Cavity</i> (Lubang)	58
Gambar 5.4 Docking <i>Cavity</i> I dan Chain A pada senyawa <i>Gendarusin A-E</i>	59
Gambar 5.5 Bentuk Dua Dimensi Ikatan Hidrogen <i>Gendarusin A-E</i>	64

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Hasil Code SMILES senyawa <i>Gendarusin A-E</i> dan <i>Tamoxifen</i>	47
Tabel 5.2 Hasil Penentuan Energi Minimal senyawa <i>Gendarusin A-E</i> dan <i>Tamoxifen</i>	48
Tabel 5.3 Hasil Penentuan Sifat Fisikokimia dan Penerapan Hukum Lima Lipinskim senyawa <i>Gendarusin A-E</i> dan <i>Tamoxifen</i>	50
Tabel 5.4 Hasil Prediksi ADME (Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, dan Ekskresi senyawa <i>Gendarusin A-E</i> dan <i>Tamoxifen</i>	53
Tabel 5.5 Hasil Validasi Reseptor.....	60
Tabel 5.6 Hasil Docking Score senyawa <i>Gendarusin A-E</i> dan <i>Tamoxifen</i> pada Reseptor <i>Estrogen Alfa</i>	61
Tabel 5.7 Hasil <i>Rerank Score</i> senyawa <i>Gendarusin A-E</i> dan <i>Tamoxifen</i> Terhadap Reseptor <i>Estrogen Alfa</i>	63
Tabel 5.8 Hasil Interaksi Ligan dengan Asam Amino.....	65
Tabel 5.9 Residu Asam Amino senyawa <i>Gendarusin A-E</i> pada Reseptor <i>Estrogen Alfa</i>	66
Tabel 6.0 Hasil Prediksi Toksisitas Menggunakan <i>Protox II Online Tool</i> dan <i>pkCSM Online Tool</i>	68

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker payudara adalah tumor ganas yang tumbuh di dalam jaringan payudara. Kanker bisa mulai tumbuh di dalam kelenjar susu, saluran susu, jaringan lemak maupun jaringan ikat pada payudara. Kanker payudara merupakan kanker nomor dua setelah kanker leher rahim yang terjadi pada wanita yang biasanya ditemukan pada umur 40-49 tahun dan letak terbanyak di kuadran lateral atas (Mansjoer, 2002). Menurut data WHO pada tahun 2010, kanker menempati urutan nomor dua sebagai penyebab kematian terbanyak berada dibawah penyakit kardiovaskular (Depkes RI, 2013).

Berdasarkan hasil Riset Kesehatan Dasar (2013), di Indonesia prevalensi kanker adalah sebesar 1,4 per 1.000 penduduk serta merupakan penyebab kematian nomor tujuh (5,7 %) dari seluruh penyebab kematian. Data Riskeksdes pada tahun 2007 menyatakan bahwa angka nasional kanker adalah 4,3 per 1000 penduduk dengan angka kejadian perempuan lebih tinggi dibandingkan laki-laki, yaitu sebesar pada perempuan 5,7 per 1000 penduduk sedangkan pada laki-laki 2,9 per 1000 penduduk (Depkes RI, 2013). Pengobatan kanker dapat dilakukan dengan cara pembedahan, kemoterapi, dan radioterapi (Liauw *et al.*, 2013).

Pembedahan dan radioterapi adalah pengobatan yang paling efektif untuk kanker lokal dan non-metastis, namun tidak efisien ketika kanker telah menyebar di seluruh tubuh sehingga penggunaan obat kanker (kemoterapi, hormon dan terapi

biologis) adalah pilihan saat ini untuk pengobatan kanker metastatik, karena mampu mencapai setiap organ dalam tubuh melalui aliran darah (Bruce *et al.*, 2005). Obat kanker payudara yang biasa digunakan sebagai terapi hormonal yaitu Tamoxifen. Obat ini bekerja dengan cara berikatan secara kompetitif dengan reseptor estrogen sehingga menghambat aksi dari estradiol (Juneja *et al.*, 2002). Tamoxifen mempunyai efek samping pada jangka panjang berupa peningkatan ketebalan endometrium yang nantinya akan menyebabkan kanker serviks (Fung *et al.*, 2003).

Pengobatan kanker dengan kemoterapi juga memiliki kelemahan yaitu dapat mempengaruhi sel-sel normal dengan tingkat proliferasi cepat, seperti folikel rambut, sumsum tulang, dan sel-sel saluran pencernaan, menghasilkan efek samping kemoterapi yang khas (Lander *et al.*, 2001). Karena efek samping tersebut perlu adanya penemuan pengobatan baru yang selektif membunuh sel kanker, seperti pengobatan dengan menggunakan tanaman obat.

Pengembangan obat baru merupakan suatu cara yang efektif dalam penemuan obat baru menggunakan bahan alam. Desain obat baru yang berasal dari tanaman berkhasiat menjadi bahan dasar untuk dilakukannya penelitian lebih lanjut. Untuk mengetahui aktivitas dari suatu tanaman membutuhkan waktu penelitian yang cukup lama, biaya mahal, dan membutuhkan energi manusia yang cukup besar sehingga diperlukan metode lain yang lebih efektif dan efisien (Megawati, 2016). Hal ini sesuai dengan firman Allah yang menjelaskan tentang ilmu pengetahuan dalam surah Al- Ankabut ayat 43:

وَتِلْكَ الْأَمْثَالُ نَضْرِبُهَا لِلنَّاسِ لَعَلَّهُمْ يَتَّقُونَ

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

Pada era modern ini sudah ditemukan cara yang efektif untuk mengembangkan penemuan obat baru dengan cara komputasi atau biasa disebut dengan *in silico*. Penemuan obat baru dengan cara komputasi dapat digunakan dalam pengembangan obat dari bahan alam dan bahan sintesis. Pendekatan secara *in silico* dilakukan untuk mengetahui hubungan kuantitatif struktur aktivitas senyawa golongan flavonoid yang terdapat pada suatu tumbuhan. Metode *in silico* yang digunakan yaitu metode *Molecular Docking*. Metode *Molecular Docking* berpotensi sebagai penemuan tanaman obat yang memiliki kemampuan sebagai antikanker (Megawati, 2016).

Molecular Docking dapat membantu skrining *in silico* untuk memprediksi apakah kandungan kimia bahan aktif dalam tumbuhan tertentu berpotensi sebagai antikanker dengan membandingkan senyawa yang sudah diketahui efeknya sebagai antikanker. Pengembangan obat anti kanker guna memperoleh aktivitas yang baik dilakukan dengan cara studi *in silico* menggunakan *Molegro Virtual Docker* (Siswandono *et.,al* 2017). Keunggulan lain dari *molecular docking* yaitu dapat meminimalisir waktu, biaya yang murah, dan mengurangi penggunaan hewan coba (Syahputra, 2015).

Pengobatan dengan menggunakan tumbuhan obat merupakan langkah yang efektif untuk dilakukan. Salah satu tumbuhan obat yang berpotensi sebagai antikanker yaitu daun gandarusa (*Justicia gendarussa* Burm f). Tumbuhan

gandarusa merupakan salah satu tumbuhan obat yang tumbuh liar di hutan dan sudah lama dimanfaatkan sebagai tumbuhan obat. Tumbuhan gandarusa ini memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Mrunthujaya and Hukkeri, 2007), antibakteri (Sivasakhti and Vijayalakshmi, 2014), antijamur (Sharma *et al.*, 2014), antirematik (Paval *et al.*, 2009), antiinflamasi dan antinosisseptif (Shikha *et al.*, 2010), antielmintik (Saha *et al.*, 2012), aktivitas sebagai anti HIV (Prajogo *et al.*, 2014) dan digunakan oleh masyarakat Papua sebagai antikontrasepsi pria (Ningsih *et al.*, 2015). Tanaman gandarusa juga mempunyai aktivitas sebagai antikanker serviks pada sel Hela dan antikanker kolon pada sel HT-29 (Widiyanti *et al.*, 2016). Dari pendekatan tersebut telah dikembangkan produk obat tradisional hingga uji klinis.

Daun gandarusa mengandung berbagai senyawa aktif yaitu senyawa golongan flavonoid, alkaloid, triterpen, kumarin, dan β -sitosterol (Kiren *et al.*, 2014). Senyawa golongan alkaloid yang diisolasi dari tumbuhan gandarusa ini disebut justridusamid (A-D). Senyawa golongan flavonoid yang telah diisolasi dari tumbuhan gandarusa disebut gendarusin A-E, senyawa gendarusin A merupakan senyawa marker yang ada pada tumbuhan gandarusa (Prayogo, *et al.*, 2008). Senyawa golongan flavonid (gendarusin A – E) memiliki kemampuan dalam menangkap radikal bebas yang dapat menyebabkan kanker (Sudaryono, 2011). Mekanisme kerja golongan flavonoid terhadap aktivitas antikanker yaitu menghambat proliferasi sel kanker dengan cara penghambatan siklus sel dan menginduksi apoptosis (Achmad *et al.*, 2014).

Kanker payudara mempunyai reseptor yang memungkinkan hormon atau protein masuk ke dalam sel kanker. Reseptor yang terdapat pada kanker payudara yaitu reseptor estrogen, progesteron, dan protein HER-2 (Hakim *et al.*, 2018). Reseptor *Estrogen α* (ER α) merupakan jenis reseptor yang bersifat antagonis yang berarti menghambat pertumbuhan sel kanker. Reseptor ini sebagai target molekuler yang menekan proliferasi dari sel kanker payudara (Setiawati *et al.*, 2014). *Estrogen α* (ER α) digunakan sebagai penanda utama untuk mengidentifikasi adanya tumor di jaringan payudara (Muchtaridi *et al.*, 2018). Sehingga reseptor ini bisa digunakan sebagai acuan ada tidaknya kanker payudara pada tubuh seorang wanita (Muchtaridi *et al.*, 2018).

Pada uji *in silico* dilakukan dengan menghubungkan struktur senyawa golongan flavonoid ekstrak *Justicia gendarussa* terhadap reseptor kanker payudara *Estrogen α* . Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini perlu dilakukan untuk mengembangkan pengobatan kanker dengan cara mengetahui sifat fisikokimia, aktivitas sitotoksik, dan toksisitas dari senyawa gendarusin A – E yang ada pada tumbuhan gandarusa. Sifat fisikokimia suatu senyawa dapat diketahui melalui aplikasi pkCSM menggunakan dasar Hukum Lima Lipinski. Uji aktivitas sitotoksik ditunjukkan dengan adanya interaksi antara ligan dengan reseptor. Sedangkan uji toksisitas dapat dilihat dengan menggunakan *Protox online tool* sehingga mendapatkan nilai LD₅₀.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka di dapatkan rumusan masalah sebagai berikut:

1. Apakah senyawa gendarusin A-E mempunyai sifat fisikokimia yang memenuhi hukum lima Lipinski?
2. Apakah senyawa gendarusin A – E yang ditunjukkan pada reseptor ER α (2JF9) mempunyai aktivitas sitotoksik sebagai antikanker payudara?
3. Apakah senyawa gendarusin A-E memiliki toksisitas yang ditunjukkan dengan LD₅₀ secara *in silico*?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka didapatkan tujuan penelitian sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui sifat fisikokimia senyawa gendarusin A-E dengan pemenuhan hukum Lima Lipinski.
2. Untuk membuktikan adanya aktivitas sitotoksik senyawa gendarusin A – E yang ditunjukkan pada reseptor 2JF9 sebagai antikanker payudara.
3. Untuk mengetahui nilai dari LD₅₀ atau toksisitas senyawa gendarusin A – E.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi atau masukan bagi perkembangan ilmu farmasi dalam bidang komputasi untuk mengetahui adanya potensi suatu tanaman sebagai antikanker payudara.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini sebagai berikut:

1. Senyawa yang digunakan pada penelitian ini yaitu senyawa gendarusin A – E.
2. Reseptor yang digunakan pada uji *in silico* ini yaitu *Estrogen Alfa* (ER α) sebagai reseptor kanker payudara.

3. Aplikasi yang digunakan untuk uji *in silico* antara senyawa gendarusin A – E dengan reseptor target adalah *Molegro Virtual Docker 6.0*.
4. Parameter molecular docking berupa rerank score, nilai RMSD, ikatan hidrogen, ikatan sterik, dan jarak ikatan.
5. Parameter aktivitas sitotoksik berdasarkan *Rerank Score*.
6. Parameter toksisitas berdasarkan LD_{50} , *Skin sensization*, *Ames toxicity*, dan *Hepatotoxicity* menggunakan *Protox online tool* secara *in silico*.
7. 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 Pengembangan Ilmu Pengetahuan dalam Prepektif Islam

In Silico merupakan suatu metode yang digunakan untuk mengembangkan obat baru. Identifikasi menggunakan metode in silico ini tidak membutuhkan biaya mahal, pengerjaannya cepat, dan tidak menggunakan hewan coba. Metode ini berperan pada proses merancang, menemukan, dan optimasi suatu senyawa aktif yang terdapat pada tanaman pada saat pengembangan obat baru (Hardjono, 2016).

وَتِلْكَ الْأَمْثَالُ نَضْرِبُهَا لِلنَّاسِ ۖ وَمَا يَعْقِلُهَا إِلَّا الْعَالِمُونَ

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

Firman Allah SWT *وَتِلْكَ الْأَمْثَالُ* “*Dan perumpamaan-perumpamaan ini*” yang dimaksud dari ayat ini yaity semua contoh ini telah disebutkan dalam surah Al-Baqarah ayat 26 dan surah Al-Hajj ayat 73. *لِلنَّاسِ ۖ وَمَا*, atau “*kami jelaskan*”, *وَمَا يَعْقِلُهَا* atau “*Kami buat untuk manusia dan tiada yang memahaminya*” maksudnya mereka tidak memahaminya. *إِلَّا الْعَالِمُونَ* atau “*kecuali orang-orang yang berilmu*”, maksudnya orang-orang yang mengenal Allah sebagaimana Jabir meriwayatkan dari Nabi Muhammad SAW, beliau bersabda “*Orang yang berilmu adalah orang yang bisa memahami Allah SWT, kemudiaan taat menjalankan apa yang diperintahkan dan menjauhi yang di murkainya*” (AL-Qurtubi and Imam, 2009).

Menurut Al Mahal *et al.*, 2007 pada Tafsir Al-Jalalin makna dari ayat ini yaitu (Dan perumpamaan-perumpamaan ini) yang ada dalam Al-Quran (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. Ayat ini merupakan seruan agar manusia belajar dan berfikir untuk memahami hal baru menggunakan ilmu pengetahuan dan teknologi yang semakin berkembang. In Silico merupakan teknologi komputasi yang sudah berkembang untuk dijadikan acuan penemuan obat baru.

2.2 Tinjauan *Justicia gendarussa* (Burm f)



Gambar 2.1 Tanaman *Justicia gendarussa* (Kavitha *et al.*, 2014)

Tanaman gandarusa (*Justicia gendarussa*) merupakan salah satu tanaman obat yang tumbuh didaerah tropis termasuk Indonesia. Gandarusa biasanya tumbuh liar di hutan, tanggul sungai, atau dipelihara sebagai tanaman pagar. Tanaman ini bisa ditemukan di pulau Jawa yang tumbuh pada ketinggian 1-500 m di atas permukaan laut (Katrin *et al.*, 2009).

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi *Justicia gendarussa* (Burm f)

Klasifikasi Gandarusa sebagai berikut (Van Steenis, 1997):

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Subkelas	: Sympetalae
Ordo	: Schropulariales
Famili	: Acanthaceae
Genus	: Justicia
Spesies	: <i>Justicia gendarussa</i> (Burm f)

Tanaman gandarusa (*J. gendarussa*) merupakan tanaman perdu, tumbuh tegak, dan tinggi mencapai sekitar 0,8 - 2 m, batangnya berkayu, bentuk segiempat tumpul atau cukup bulat, bercabang, beruas-ruas, dan berwarna coklat kehitaman. Daun tanaman ini mempunyai pertulangan yang menyirip dan letaknya berhadapan, bertangkai pendek, berwarna hijau tua, termasuk daun tunggal, bentuknya lanset dengan panjang 5 - 20 cm dan lebar 1 – 3,5 cm. Bunga berwarna ungu, mahkota berbentuk tabung, berbibir dua, majemuk, bentuk malai dengan panjang 3 – 12 cm. Buah berbentuk ganda berbiji empat. Biji berwarna coklat, kecil, dan keras. Akar tunggang dan berwarna coklat (Dalimartha, 2001).

2.2.2 Kandungan Kimia Tanaman

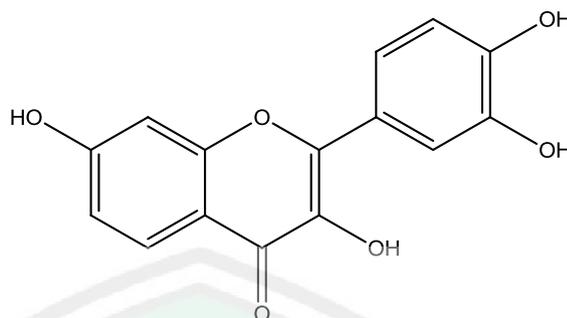
Daun gandarusa mengandung berbagai senyawa aktif yaitu senyawa golongan flavonoid, alkaloid, triterpen, kumarin dan β -sitosterol (Kiren *et al.*, 2014). Selain itu juga mengandung minyak atsiri, kalium, kalsium oksalat, dan tanin (Dalimartha, 2001). Dari penelitian terdahulu diketahui bahwa daun gandarusa mengandung 12

komponen flavonoid dengan komponen mayor 6,8-di- α -L-arabinosil-4,5,7-trihidroksinflavon atau biasa disebut dengan Gendarusin A (Prajogo *et al.*, 2009).

2.2.2.1 Tinjauan Flavonoid dalam *Justicia gendarussa* (Burm f)

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol terbesar yang terdapat di alam. Senyawa- senyawa ini berupa zat warna merah, ungu, biru, dan kuning yang ditemukan dalam tumbu-tumbuhan. Senyawa golongan flavonoid memiliki kerangka dasar 15 atom karbon, terdiri dari dua cincin benzena yang dihubungkan oleh rantai linear tiga karbon dan dapat dinyatakan dalam konfigurasi C6-C3-C6. Golongan flavonoid merupakan senyawa polar karena memiliki sejumlah gugus hidroksil yang tidak tersubstitusi. Pelarut polar yang bisa digunakan untuk mengekstrak flavonoid dari jaringan tumbuhan meliputi etanol, metanol, etil-asetat, atau campuran dari pelarut tersebut (Akbar, 2010).

Flavonoid memiliki potensi sebagai antioksidan yang dapat berperan dalam penghambatan siklus sel, memicu terjadinya apoptosis, antiproliferasi, dan penghambatan siklus sel (Ren *et al.*, 2003). Penelitian lain juga menyatakan bahwa flavonoid memiliki manfaat biologis, seperti anti-inflamasi, anti-tumor, dan anti-aterosklerosis (Hui *et al.*, 2013). Golongan senyawa flavonoid juga mempunyai bioaktivitas sebagai antikanker. Kemampuan flavonoid sebagai antikanker dihubungkan dengan keberadaan gugus hidroksi yang tersubstitusi pada flavonoid, adanya rantai samping gugus prenil, dan adanya resonansi (Ito *et al.*, 2003).

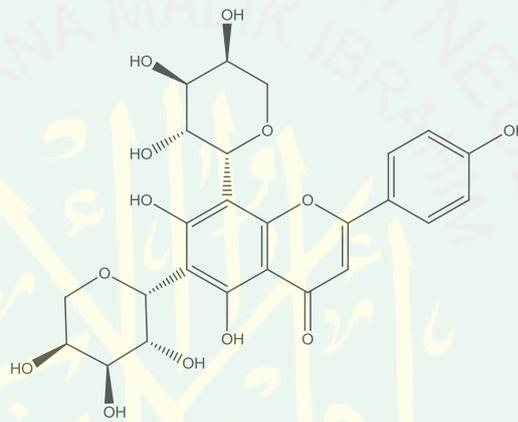


Gambar 2.2 Struktur umum flavonoid (Akbar, 2010).

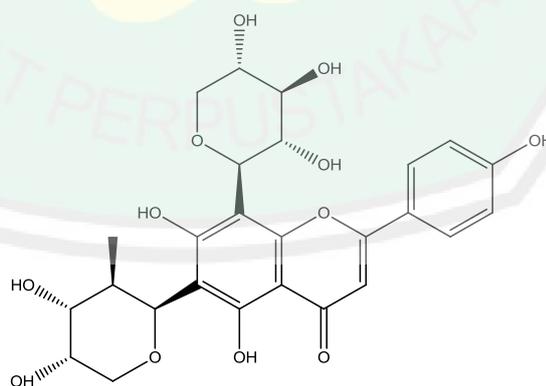
Fraksi n-butanol daun *Justicia gendarussa* Burm mengandung bahan aktif yang dapat mencegah penetrasi spermatozoa mencit pada proses fertilisasi, fraksi tersebut mengandung 12 komponen flavonoid dengan komponen mayor 6,8-di- α -l-arabinopiranosil-4',5,7-trihidroksiflavon atau sering disebut gendarusin A (Prajogo *et al.*, 2009). Gendarusin merupakan golongan flavonoid C-glikosida yang mempunyai gugus gula terikat pada atom C flavonoid, yaitu pada inti benzena dengan suatu ikatan karbon-karbon yang lebih tahan asam. Gendarusin secara utuh diabsorpsi dalam saluran cerna tanpa adanya proses hidrolisis gugus gula yang terikat pada inti apigenin. Hal ini dapat dibuktikan dengan adanya senyawa gendarusin A yang terdapat pada plasma dan urin manusia (Saifuddin *et al.*, 2014).

Selain terdapat gendarusin A pada fraksi n-butanol *Justicia gendarussa*, ada beberapa komponen minor yaitu 6-C- α -L-arabinopiranosil-4',5,7-trihidroksi-8C- β -D-silopiranosiflavon atau disebut gendarusin B. Terdapat tiga senyawa yang belum diketahui nama IUPAC nya dan biasa disebut gendarusin C, gendarusin D, dan gendarusin E. Gendarusin A merupakan komponen mayor dan steroid, volatile oil, alkaloid, dan flavonoid lain gendarusin B,C,D, dan E merupakan komponen minor dalam ekstrak etanol 70% (Prajogo *et al.*, 2010).

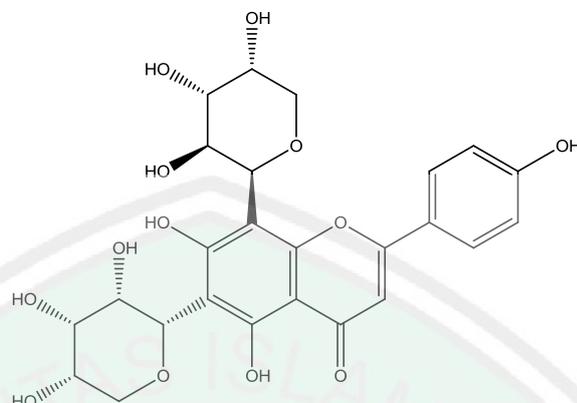
Kelima senyawa tersebut mempunyai inti apigenin, namun hanya berbeda pada konfigurasi ruang glikosida yang terikat pada atom C6 dan C8 serta gugus OH pada glikosida. Perbedaan struktur kelima senyawa gendarusin akan mempengaruhi sifat fisika kimia (lipofilik, elektronik, dan sterik) sehingga akan mempengaruhi proses penetrasi senyawa tersebut pada membrane biologis dan berpengaruh pada proses absorbs. Perbedaan struktur senyawa gendarusin akan mempengaruhi pola interaksinya dengan reseptor hialuronidase (Saifuddin *et al.*, 2014).



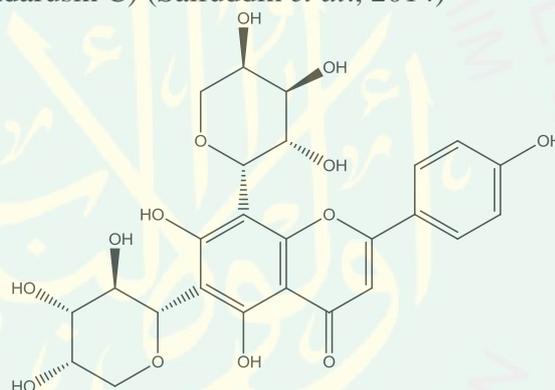
Gambar 2.3 6,8-di-C- α -L-arabinocyl-4',5,7 trihidroxy-flavon (Gendarusin A) (Saifuddin *et al.*, 2014)



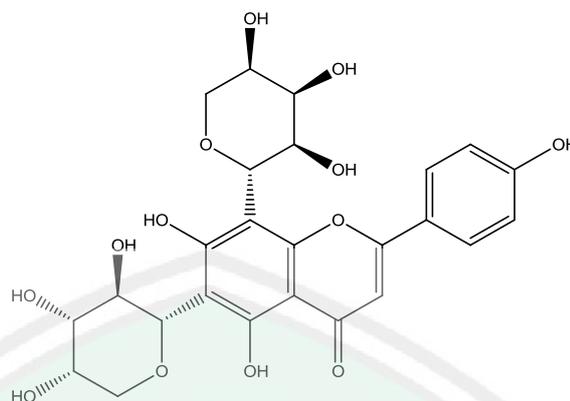
Gambar 2.4 Struktur -C- α -L-arabinopyranocyl-4',5,7- trihidroxy-8-C- β -D-cylopyranocylflavone C (Gendarusin B) (Saifuddin *et al.*, 2014)



Gambar 2.5 Struktur 5,7-dihydroxy, 2-(4-hydroxyphenyl)-8-((2S,3S,4R)-3,4,5-trihydroxytetrahydro-2H-pyran-2-yl)-6((2S,3S,4S,5S)-3,4,5-trihydroxytetrahydro-2H-pyran-2-yl)-4H-chromen-4-one (Gendarusin C) (Saifuddin *et al.*, 2014)



Gambar 2.6 Struktur 5,7-dihydroxy, 2-(4-hydroxyphenyl)-6-((2S,3R,4S,5S)-3,4,5-trihydroxytetrahydro-2H-pyran-2-yl)-8((2S,3S,4R,5R)-3,4,5-trihydroxytetrahydro-2H-pyran-2-yl)-4H-chromen-4-one Gendarusin D) (Saifuddin *et al.*, 2014)



Gambar 2.7 Struktur 5,7-dihydroxy, 2-(4-hydroxyphenyl)-8-((2S,3R,4R,5R)-3,4,5-trihydroxytetrahydro-2H-pyran-2-yl)-6((2S,3R,4S,5S)-3,4,5-trihydroxytetrahydro-2H-pyran-2-yl)-4H-chromen-4-one (Gendarusin E) (Saifuddin *et al.*, 2014)

2.2.3 Manfaat Tanaman

Justicia gendarussa Burm dikenal mempunyai aktivitas sebagai kontrasepsi pria dan bersifat anti-HIV. Daun gandarusa biasa digunakan sebagai obat tradisional seperti reumatik, myalgia, demam, pusing, dan nyeri tulang. Masyarakat papua biasa menggunakan gandarusa sebagai alat kontrasespi karena penelitian terdahulu menyatakan bahwa ekstrak etanol 70% daun gandarusa bebas alkaloid mempunyai aktivitas sebagai kontrasepi pria (Widiyanti *et al.*, 2016). Daun gandarusa juga diketahui dapat digunakan sebagai antioksidan, antibakteri, antijamur, anti-inflamasi, dan analgesik (Ningsih *et al.*, 2015). *Justicia gendarussa* juga mempunyai aktivitas sebagai antikanker dari senyawa gendarusin yaitu sebagai antikanker pankreas pada sel BxPC-3 dan antikanker serviks pada sel Hela (Kavitha *et al.*, 2014). Esktrak gandarusa juga bisa digunakan sebagai antikanker kolon pada sel HT-29 (Widiyanti *et al.*, 2016).

2.3 Tinjauan Kanker

Kanker merupakan suatu penyakit yang disebabkan pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh tidak normal sehingga mempengaruhi organ tubuh (Akmal *et al.*, 2010). Adanya penyakit kanker ditandai dengan pembelahan sel yang tidak terkendali dan kemampuan sel dalam menyerang jaringan biologi lainnya, dengan cara pertumbuhan langsung di jaringan yang bersebelahan (*invasi*) atau dengan cara migrasi sel ke tempat yang jauh (*metastasis*) (Sunaryati, 2011). Penyakit ini berkembang dengan cepat dan terus membelah diri sehingga menjadi penyakit yang berat dan sulit dikendalikan (Maharani, 2009).

2.4 Kanker Payudara

Kanker payudara merupakan suatu keganasan yang berasal dari sel-sel payudara. Kanker ini menyerang jaringan payudara dan tumbuh didalam kelenjar susu, saluran susu, serta jaringan lemak. Kanker payudara terjadi karena adanya pertumbuhan abnormal pada kelenjar payudara. Pertumbuhan ini berlangsung lebih lambat dibandingkan dengan kanker yang lainnya. Salah satu penyebab utama terjadinya kanker payudara yaitu sistem getah bening. Sel-sel kanker payudara dapat memasuki pembuluh limfe dan mulai tumbuh di kelenjar getah bening. Apabila sel-sel kelenjar getah bening sudah mencapai ketiak (*node axilaris*) dengan tanda adanya pembekakan dibagian ketiak. Maka dapat disimpulkan bahwa sel-sel kanker telah masuk ke aliran darah dan menyebar ke organ tubuh lainnya (Seobachman, 2011).

2.4.1 Anatomi Fisiologi

2.4.1.1 Anatomi Payudara

Setiap payudara terdiri dari 12 sampai 12 lobulus kelenjar tubulualveolar yang masing-masing mempunyai saluran ke puting susu yang disebut duktus laktiferus. Diantara kelenjar susu dan fascia pektoralis serta diantara kulit dan kelenjar payudara terdapat jaringan lemak. Diantara lobulus terdapat ligamentum Cooper yang memberi rangka untuk payudara. Masing-masing lobulus terdiri dari sel epitel kubus dan mioepitel yang mengelilingi lumen. Sel epitel mengarah ke lumen sedangkan sel mioepitel berada diantara sel epitel dan membran basalis (Haryono *et al.*, 2011).

Adanya payudara yang sensitif terhadap pengaruh hormonal akan mengakibatkan payudara mengalami pertumbuhan neoplastik yang bersifat jinak maupun ganas, sifat ganas tersebut dapat berupa kanker. Kanker payudara dapat terjadi dibagian mana saja dalam payudara, namun kebanyakan terjadi pada kuadran terluar. Penentuan lokasi terjadinya kanker payudara dibagi menjadi empat kuadran yaitu kuadran lateral (pinggir atas), lateral bawah, median atas (tengah atas), dan median bawah (Purwoastuti, E, 2008).

2.4.1.2 Fisiologi Payudara

Payudara mengalami tiga fase perubahan yang dipengaruhi oleh hormon. Perubahan pertama dimulai dari masa hidup anak melalui masa pubertas, masa fertilitas, sampai ke klimakterium dan menopause. Sejak masa pubertas pengaruh estrogen dan progesterone yang diproduksi ovarium dan hormon hipofise, telah menyebabkan duktus berkembang dan timbul asinus. Perubahan kedua yaitu

perubahan sesuai dengan daur menstruasi. Sekitar hari kedelapan menstruasi payudara menjadi lebih besar dan pada beberapa hari sebelum menstruasi berikutnya terjadinya pembesaran secara maksimal. Terkadang timbul benjolan yang tidak rata dan terasa nyeri. Beberapa hari menjelang menstruasi payudara menjadi tegang dan nyeri sehingga tidak mungkin dilakukan pemeriksaan fisik, terutama palpasi. Pada saat pemeriksaan foto mammogram tidak berguna, karena adanya kontras kelenjar terlalu besar. Perubahan yang ketiga terjadi pada saat hamil dan menyusui. Pada saat kehamilan payudara menjadi besar karena epitel duktus lobul dan duktus alveolus berproliferasi, serta tumbuh duktus yang baru. Sekresi hormon prolaktin dari hipofisis anterior memicu laktasi. Air susu diproduksi oleh sel-sel alveolus, mengisi asinus, kemudian dikeluarkan melalui duktus ke puting susu (Sjamsuhidajat, 2004).

2.4.2 Patofisiologi Kanker Payudara

Kanker payudara terjadi karena hilangnya kontrol sel payudara dan apoptosis sehingga sel payudara berproliferasi secara terus-menerus. Hilangnya fungsi apoptosis dapat menyebabkan ketidakmampuan dalam mendeteksi kerusakan sel yang disebabkan kerusakan DNA. Jika terjadi mutasi gen p53 maka fungsi dari p53 sebagai pendeteksi kerusakan DNA akan hilang, sehingga sel-sel abnormal akan berproliferasi secara terus-menerus. Peningkatan jumlah sel abnormal akan membentuk benjolan biasa disebut dengan tumor atau kanker. Pertumbuhan sel kanker membutuhkan waktu sekitar 7 tahun dengan ukuran awal benjolan berdiameter 1 cm. Gejala lain terjadi yaitu adanya cairan yang keluar dari muara duktus satu payudara (Price, 2006).

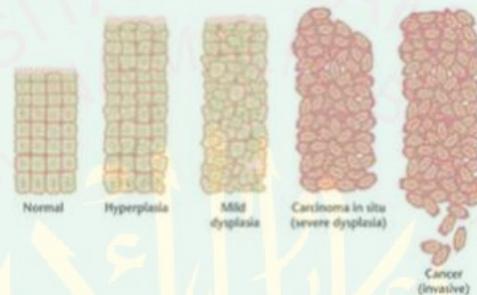
Kanker payudara berasal dari epitel saluran dan kelenjar payudara. Pertumbuhan ini berawal dari dalam duktus ataupun kelenjar lobulus atau yang biasa disebut karsinoma noninvasif. Kemudian tumor menerobos ke luar dinding duktus atau kelenjar di daerah lobulus dan invasi ke dalam stroma atau karsinoma invasif. Penyebaran tumor bisa terjadi melalui pembuluh getah bening dan tumbuh di kelenjar getah bening, sehingga dapat menyebabkan kelenjar getah bening aksiler atau supraklavikuler membesar. kanker payudara menyebar pertama kali ke kelenjar aksila regional. Proses metastasis paling jauh terjadi di tulang, hati, pleura dan otak (Heffner, 2005).

2.4.3 Patogenesis Kanker Payudara

Kanker payudara paling banyak berasal dari bagian dalam lapisan duktus ataupun lobulus sebagai akibat mutasi gen yang bertanggung jawab dalam mengatur pertumbuhan sel dan menjaga agar sel tersebut tetap sehat (Jemal, 2011). Perubahan fibrokistik digunakan untuk berbagai perubahan yang ada di payudara perempuan berupa kelainan yang tidak berbahaya hingga pola yang berkaitan dengan peningkatan karsinoma payudara. Perubahan fibrokistik dapat dibedakan dari karsinoma dengan pemeriksaan bahan aspirasi jarum halus atau dengan biopsi dan evaluasi histologik (Kumar *et al.*, 2007).

Pola perubahan fibrokistik dibagi menjadi dua, yaitu lesi non- proliferatif dan lesi proliferatif. Lesi non- proliferatif adalah perubahan yang paling sering terjadi dengan tanda peningkatan stroma fibrosa disertai dengan dilatasi duktus dan pembentukan kista dengan berbagai ukuran. Lesi proliferatif adalah serangkaian hiperplasia sel epitel duktulus serta adenosis sklerotikans. Hiperplasia epitel

mencakup serangkaian lesi proliferasi di dalam duktulus, duktus terminalis, dan terkadang lobulus payudara. Pada adenosis sklerotikans tampak ada gambaran mikroskopiknya berupa fibrosis intralobularis serta proliferasi duktulus kecil dan asinus. Payudara yang mengalami perubahan fibrokistik berupa hiperplasia atipikal, duktulus atau lobulus peningkatan risiko yang bermakna untuk mengarah pada 18 karsinoma (Kumar *et al.*, 2007).



Gambar 2.8 Proses perubahan epitel payudara normal hingga menjadi kanker (Kumar *et al.*, 2007)

2.4.4 Pembagian Stadium Kanker Payudara

Pembagian stadium klinik payudara sebagai berikut:

1. Stadium I yaitu tumor dengan garis tengah <2 cm dan belum menyebar keluar dari payudara (Yustiana, 2013).
2. Stadium II A yaitu tumor dengan garis tengah 2-5 cm dan belum menyebar ke kelenjar getah bening ketiak, atau tumor dengan garis tengah <2 cm tetapi sudah menyebar ke kelenjar getah bening ketiak (Yustiana, 2013).
3. Stadium II B yaitu tumor dengan garis tengah lebih besar dari 5 cm dan belum menyebar ke kelenjar getah bening ketiak atau tumor dengan garis

tengah 2-5 cm tetapi sudah menyebar ke kelenjar getah bening ketiak (Yustiana, 2013).

4. Stadium III A yaitu tumor dengan garis tengah <5 cm dan sudah menyebar ke kelenjar getah bening ketiak disertai dengan pelekatan satu sama lain atau pelekatan ke satu sama lain (Yustiana, 2013).
5. Stadium III B yaitu tumor telah menyusup keluar payudara (ke dalam kulit payudara atau ke dinding dada dan tulang dada) (Yustiana, 2013).
6. Stadium IV yaitu tumor telah menyebar keluar daerah payudara dan dinding payudara, seperti ke hati, tulang, atau paru-paru. Kondisi dimana ukuran tumor bisa kecil ataupun besar namun sudah menyebar ke bagian tubuh lainnya (Yustiana, 2013).

2.4.5 Jenis Kanker Payudara

Subtipe kanker payudara berdasarkan pemeriksaan *Immunohistochemie* (IHC) dapat digolongkan sebagai berikut:

1. Luminal A: ER/PR (+), HER 2 (-), Ki67 <25%

Luminal A merupakan sel kanker yang berasal dari inti (luminal) sel duktus kelenjar payudara. Subtipe ini cenderung mempunyai prognosis yang paling baik dengan *survival rates* yang paling rendah dan *recurrence rates* yang rendah. Hanya 12-15 % dari luminal A yang mempunyai mutasi p53 yaitu faktor tumor supresor gen yang dihubungkan dengan prognosis yang buruk (Asako *et al.*, 2013).

2. Luminal B (HER 2 (-)): ER/PR (+), Ki67>25%
3. Luminal B (HER 2(+)): ER/PR (+), HER 2 (+), any Ki67

Luminal B merupakan sel kanker payudara yang berasal dari inti (luminal) sel duktus kelenjar payudara yang mempunyai reseptor (ER+) atau (PR+) dengan Ki67 yang tinggi >14% (mempunyai aktifitas proliferasi yang tinggi) dan HER 2(+). Tumor luminal ini lebih sering ditemukan pada usia muda di bandingkan dengan tumor luminal A (Asako *et al.*, 2013).

4. HER 2: ER/PR (-), HER 2 (+)
5. TN: ER/PR (-), HER 2 (+)

2.5 Metode *In Silico*

Metode *in silico* merupakan suatu cara untuk mengembangkan obat baru yang bisa digunakan sebagai studi awal dan akan dilanjutkan dengan metode lain pada skala laboratorium (Rohmah, 2017). Metode ini mempunyai peranan penting dalam bidang kimia medisinal, yaitu pada proses merancang, menemukan, dan optimasi senyawa bioaktif saat pengembangan obat baru. *In silico* merupakan cara identifikasi obat baru yang cepat dan tidak membutuhkan biaya mahal seperti metode lain. Uji *in silico* dilakukan dengan cara *moleculer docking* yang dapat memprediksi aktivitas suatu senyawa dengan sel target (reseptor) (Hardjono, 2016).

Docking merupakan upaya untuk menselaraskan antara ligan dan protein. Hasil dari uji *in silico* yaitu berupa nilai *Rerank Score* (RS). *Rerank Score* merupakan energi ikatan yang ditunjukkan melalui adanya jumlah energi yang dibutuhkan untuk membentuk ikatan antara ligan dan reseptor. Semakin kecil nilai energi ikatan yang didapatkan maka ikatan tersebut semakin stabil, dan jika semakin stabil ikatan ligan dengan reseptor maka bisa dikatakan bahwa aktivitas senyawa tersebut semakin besar (Hardjono, 2016).

Aktivitas biologis suatu obat yang didapatkan dari kekuatan ikatan obat dan reseptor yang biasa disebut dengan nilai doking (*docking score*). Doking merupakan suatu tahap identifikasi energi terendah dari proses interaksi ligan dengan reseptor yang sudah diketahui strukturnya. Interaksi antara ligan dan reseptor melibatkan ikatan-ikatan kimia, meliputi: ikatan kovalen, van der Waals, hidrogen, ionik, hidrofobik, dipol-dipol, dan transfer muatan (Siswandono, 2016).

2.6 Molegro Virtual Docker

Molegro Virtual Docker (MVD) merupakan suatu aplikasi yang digunakan untuk memprediksi cara ligan berinteraksi dengan makromolekul. Identifikasi ikatan ligan dengan cara evaluasi yang berulang dan memperkirakan interaksi yang terjadi antara energi ikatan dengan suatu makromolekul. Molegro Virtual Docker menampilkan ligan yang fleksibel, jadi ligan geometri yang optimal akan ditentukan selama proses docking (CLCbio, 2013).

Pendekatan *in silico* menggunakan Molegro Virtual Docker (MVD) dilakukan dengan cara skrining virtual untuk menemukan kandidat obat baru. Kelebihan dari MVD yaitu memiliki ketepatan akurasi yang baik dibandingkan aplikasi lainnya. Hal ini dapat dilihat dari skor presentase MVD sebesar 87,01 %, Glide 81,82%, dan Surflex 75,32% (Thomsen & Christensen, 2006). Aplikasi MVD ini menggunakan fungsi penilaian internal (Dockscore) yang digunakan untuk memilih dan membedakan posisi untuk setiap senyawa (Puspaningtyas, 2012).

2.7 Hormon Estrogen

Hormon reproduksi seperti progesteron, estrogen, dan testosteron merupakan golongan hormonal. Reseptor hormon steroid terletak didalam sitosol sebelum

pengikatan dengan hormon. Pada saat hormon steroid berikatan ke reseptor sitosoliknya, kompleks hormon reseptor yang terbentuk akan bergerak ke dalam nukleus. Didalam nukleus bagian reseptor yang kompleks akan berinteraksi dengan DNA atau protein pengikat DNA dan merangsang gen-gen spesifik (Campbell and Reece, 2008).

Fungsi utama dari hormon estrogen yaitu untuk merangsang proliferasi sel, pematangan jaringan organ-organ kelamin, dan jaringan lain yang berikatan dengan reproduksi. Hormon ini menyebabkan munculnya sifat-sifat kelamin pada hewan betina. Hormon estrogen juga menyebabkan timbulnya estrus, merangsang pelepasan symphysis pubis pada saat partus, menggerakkan pematangan sistem saluran kelenjar ambing untuk laktogenesis, dan mempercepat osifikasi epifise tulang-tulang tubuh. Susunan saraf pusat adalah target lain dari estrogen yang akan memodulasi sekresi LH dan FSH melalui sistem hipotalamus- hipofisis hewan jantan dan betina (Johnson and Everit, 1884).

2.7.1 Reseptor Estrogen

Reseptor obat merupakan suatu makromolekul yang berupa lipoprotein, asam nukleat yang jelas dan spesifik terdapat dalam jaringan sel hidup, mengandung gugus-gugus fungsional atau atom-atom terorganisasi (Cartika, 2016). Estrogen merupakan salah satu hormon yang penting untuk pertumbuhan dan diferensiasi sel-sel epitel payudara secara normal. Reseptor estrogen mengatur respon seluler melalui ikatan dengan dua reseptor kognitif, ER dan ER yang merupakan ligan pengatur transkripsi dengan berbagai fungsi fisiologis (Chen and Russo, 2009).

Reseptor estrogen merupakan penanda prognostik utama yang digunakan untuk mengidentifikasi tumor yang ada di jaringan payudara. Estrogen mempunyai peranan penting dalam proses karsinogenesis dan penghambatannya melalui target endokrin dengan cara langsung menggunakan agonis estrogen (*selective estrogen receptor modulators*) atau dengan cara memblokir perubahan androgen menjadi estrogen yang merupakan terapi pada kanker payudara. Kanker payudara dengan ER (+) dan PR (+) mempunyai resiko mortalitas lebih tinggi dibandingkan ER (-) dan PR (-) (Payne, 2008).

Reseptor estrogen terdiri dari dua jenis yaitu ER α dan ER β . Kedua jenis reseptor tersebut adalah faktor transkripsi yang memperantarai kerja estrogen. ER α dan ER β mengikat estradiol pada lokasi yang sama, namun memiliki perbedaan afinitas dan respon yang dihasilkan (Payne, 2008). Reseptor ER α ditemukan pada endometrium, sel-sel payudara, sel stroma ovarium, dan hipotalamus. Sedangkan ER β ditemukan pada ginjal, otak, tulang, jantung, mukosa usus, prostat, dan sel-sel endotel. Reseptor ER α yang berhubungan dengan tumor mempunyai derajat diferensiasi lebih baik, sedangkan ER β masih belum diketahui dengan jelas (Levin, 2005).

Perbedaan lain dari kedua reseptor tersebut yaitu sifat dari masing-masing reseptor. Reseptor ER α merupakan jenis reseptor antagonis yang berarti menghambat pertumbuhan dari sel kanker payudara sedangkan reseptor ER β termasuk jenis reseptor agonis. ER β mampu mencegah pertumbuhan kanker payudara pada saat stadium awal dan ER α menghambat pertumbuhan kanker

payudara pada stadium lanjut. ER α mempunyai tingkat proliferasi sel kanker payudara lebih tinggi dibandingkan ER β (Paterni *et al.*, 2014).

2.7.2 Reseptor Estrogen α

Estrogen α (ER α) adalah ligan yang diaktifkan oleh transkripsi regulator yang merupakan pengatur utama proses diferensiasi dan proliferasi pada kanker payudara. Reseptor estrogen alfa berperan dalam perkembangan kanker payudara tipe hormonal dependen. Estrogen α juga merupakan penanda utama yang digunakan untuk mengidentifikasi adanya tumor di bagian payudara (Muchtaridi *et al.*, 2018).

2.7.3 Asam Amino Penyusun Reseptor

Asam amino sebagai *building block* atau unit penyusunan dari protein yang memiliki fungsi sebagai protein transport, protein struktural, enzim, antibodi, neurotransmitter, dan reseptor sel. Asam amino dibagi menjadi dua bagian yaitu asam amino endogen yang dibentuk oleh tubuh manusia atau non esensial dan asam amino eksogen yang diperoleh dari makanan. Pada struktur asam amino terdapat satu atom C sentral yang mengikat secara kovalen gugus amino, gugus karboksil, satu atom H dan rantai samping atau gugus R. Gugus R menunjukkan sifat kimiawi setiap asam amino sebagaimana ikatan protein dan fungsi biologis. Gugus R mempunyai perbedaan pada tiap jenis asam amino menentukan struktur, ukuran, muatan elektrik, dan sifat kelarutan air. Dua asam amino berikatan melalui suatu ikatan peptida dan membentuk rantai polipeptida yang tidak bercabang dan akhirnya membentuk suatu protein (Harti, 2014).

Menurut studi kristalografi Shiau ada tujuh belas asam amino yang terlibat dengan ikatan vander Waals antara produk estrogen dan tamoxifen. Posisi asam amino sebagai berikut, Alanine (350), Asam Aspartat (351), asam Glutamat (419), Glycine (420 dan 521), Histidine (524), Isoleucine (424), Leucine (346, 349, 387, 391, 428, dan 525), Methionine (343 dan 421), Phenylalanine (401), dan Tryptophan (383). Ikatan hidrogen yang lebih kuat antara protein dan ligan melibatkan asam amino yaitu Asam Glutamat (353) dan Arginine (394) (Wilfrido *et al.*, 2016).

2.8 Ikatan Obat dengan Reseptor

2.8.1 Ikatan Kovalen

Ikatan kovalen dapat terbentuk jika ada dua atom yang saling menggunakan sepasang elektronnya secara bersamaan. Ikatan ini merupakan ikatan kimia yang paling kuat dengan kekuatan 100 kkal/mol. Hasil interaksi obat reseptor melalui ikatan kovalen berupa ikatan kompleks yang cukup stabil yang memiliki kegunaan untuk pengobatan tertentu seperti antibakteri dan antikanker (Siswandono and Soekardjo, 2000).

2.8.2 Ikatan Ion

Ikatan ion merupakan suatu ikatan yang didapatkan dari daya tarik menarik elektrostatik antara ion-ion yang muatannya berlawanan. Kekuatan tarik menarik suatu ion akan semakin berkurang jika jarak antar ion semakin jauh dan pengurangan itu berbanding terbalik dengan jaraknya (Siswandono and Soekardjo, 2000).

2.8.3 Ikatan Hidrogen

Ikatan hidrogen adalah suatu ikatan antara atom H yang memiliki muatan positif parsial dengan atom lain yang memiliki sifat elektromagnetif, serta memiliki sepasang elektron bebas dengan oktet yang lengkap seperti N, O, F. Terdapat dua ikatan hidrogen yaitu ikatan hidrogen intramolekul yang terjadi dalam suatu molekul dan ikatan intermolekul yang terjadi antar molekul-molekul. Ikatan intermolekul memiliki kekuatan lebih lemah dibandingkan intramolekul (Siswandono and Soekardjo, 2000).

2.8.4 Ikatan Van Der Waals

Ikatan Van Der Waals merupakan kekuatan tarik menarik antar molekul atau atom yang tidak bermuatan dan letaknya berdekatan dengan jarak sekitar 4-6 Å. Ikatan ini dapat terjadi karena sifat kepolarisasian molekul atau atom. Ikatan Van Der Waals terlibat pada interaksi cincin benzen dengan daerah bidang datar reseptor dan pada interaksi rantai hidrokarbon dengan makromolekul protein (reseptor) (Siswandono and Soekardjo, 2000).

2.8.5 Interaksi Ion-dipol dan Dipol-dipol

Interaksi ini terjadi jika ada perbedaan keelektronegatifan atom C dengan atom yang lain, seperti O dan N yang akan membentuk distribusi elektron tidak simetris atau dipol yang mempunyai kemampuan untuk membentuk ikatan dengan ion atau dipol lainnya, baik yang mempunyai daerah kerapatan elektron yang tinggi maupun rendah. Gugus yang mempunyai fungsi dipolar meliputi gugus karbonil, ester, eter, amida, dan nitril. Gugus-gugus tersebut sering dijumpai pada senyawa berstruktur spesifik (Siswandono, 2016).

2.8.6 Ikatan Hidrofob

Ikatan hidrofob termasuk salah satu kekuatan penting pada proses penggabungan daerah non polar molekul obat dengan daerah nonpolar pada reseptor biologis. Daerah non polar molekul obat yang tidak larut dalam air dan molekul-molekul air disekelilingnya akan bergabung melalui ikatan hidrogen yang dapat membentuk struktur *quasy-crystalline* (*icebergs*). Jika dua daerah non polar seperti gugus hidrokarbon molekul obat dan daerah non polar reseptor berada ditempat yang sama dalam lingkungan air, maka akan mengalami suatu penekanan sehingga jumlah molekul air yang kontak dengan daerah non polar tersebut menjadi berkurang. Akibatnya struktur dari *quasy-crystalline* akan pecah dan menghasilkan peningkatan entropi yang dapat digunakan untuk isolasi struktur non polar. Peningkatan energi bebas dapat menstabilkan molekulair sehingga tidak kontak dengan daerah non polar. Penggabungan seperti itu disebut dengan ikatan hidrofobik (Siswandono and Soekardjo, 2000).

2.8.7 Transfer Muatan

Kompleks yang terbentuk antara dua molekul melalui ikatan hidrogen yang merupakan kasus khusus dari fenomena umum kompleks donor-aseptor yang distabilkan melalui daya tarik menarik elektrostatik antara molekul donor elektron dan molekul aseptor elektron. Kompleks transfer muatan dapat dibagi menjadi dua senyawa meliputi senyawa yang berfungsi sebagai donor elektron dan sebagai aseptor elektron. Makromolekul dari sistem biologis yang bekerja sebagai komponen reseptor mempunyai gugus protein atau asam amino yang dapat membentuk kompleks melalui transfer muatan yang memiliki 3 fungsi yaitu,

sebagai donor elektron (seperti asam aspartat, glutamat, sistein, dan metionin), sebagai aseptor elektron (seperti sistein, arginin, dan lisin), dan sebagai donor serta aseptor elektron (seperti histidin, serin, asparagin, dan glutamin) (Siswandono and Soekardjo, 2000).

2.9 Aktivitas Sitotoksik

Aktivitas sitotoksik merupakan cara untuk mendeteksi adanya aktivitas antikanker dari suatu senyawa. Aktivitas suatu komponen obat dapat diprediksi dengan cara mengetahui energi yang dibutuhkan antara senyawa dengan reseptor. Energi hasil interaksi tersebut dapat dilihat dari *Rerank Score* yang didapatkan (Hardjono *et al.*, 2016). Semakin kecil energi ikatan (*Rerank Score*) berarti semakin stabil ikatan tersebut. Jika ikatan ligan dengan reseptor semakin stabil maka dapat dinyatakan bahwa aktivitasnya juga semakin besar (Kesuma *et al.*, 2018). Senyawa N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea mempunyai nilai *Rerank Score* paling kecil -152,83 yang menandakan nilai paling stabil sehingga mempunyai aktivitas sitotoksik paling tinggi untuk antikanker payudara pada sel MCF-7 (Hardjono *et al.*, 2016).

2.10 Toksisitas

Toksisitas merupakan keadaan yang menjadi tanda adanya efek toksik atau racun yang terdapat pada suatu bahan sebagai sediaan single dose atau campuran. Uji toksisitas digunakan untuk mendapatkan informasi atau data tentang toksisitas suatu bahan kimia pada hewan coba. Uji toksisitas secara umum dapat dikelompokkan menjadi uji toksisitas akut/jangka pendek dan uji toksisitas jangka panjang (Donatus, 2005).

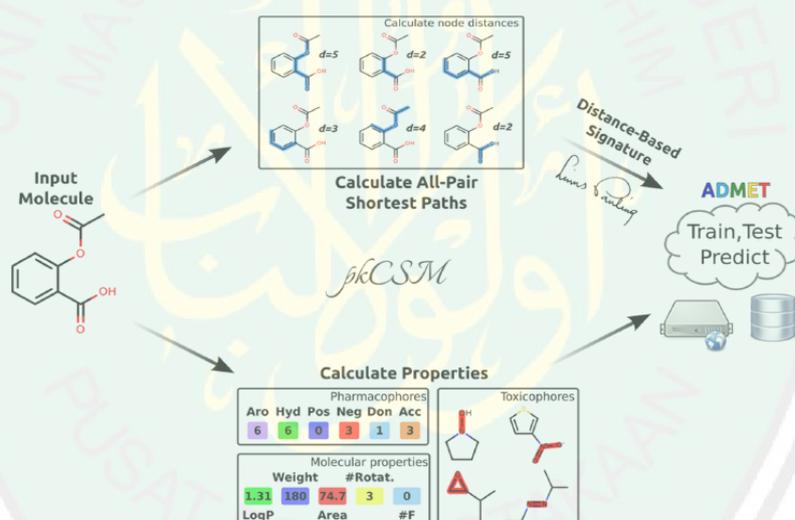
Penentuan toksisitas suatu senyawa dapat dilakukan dengan menggunakan uji *Ames Toxicity*. Uji *Ames Toxicity* merupakan suatu metode yang digunakan secara luas untuk menilai potensi mutagenik senyawa dengan menggunakan bakteri (Kesuma *et al.*, 2018). Tolak ukur yang digunakan untuk menyatakan dosis toksisitas adalah Lethal Dose (LD_{50}) (Ihwan *et al.*, 2018). LD_{50} merupakan pemberian suatu senyawa atau bahan yang dapat menyebabkan kematian 50% pada kelompok hewan coba (Kesuma *et al.*, 2018). Uji toksisitas secara eksperimental laboratorium membutuhkan tenaga, waktu yang cukup lama, biaya yang mahal, dan fasilitas yang cukup memadai. Sebaliknya jika prediksi toksisitas dari model HKSA (Hubungan Kuantitatif Struktur Aktivitas) dapat digunakan untuk mendukung hipotesis dan memprioritaskan studi eksperimental lebih lanjut (Djalil *et al.*, 2012).

Tingkat kelas toksisitas berdasarkan *Globally Harmonized System* (GHS) yaitu, kelas I: fatal jika tertelan dengan $LD_{50} (\leq 5 \text{ mg / kg})$, kelas II: fatal jika tertelan ($5 < LD_{50} \leq 50 \text{ mg / kg}$), kelas III: toksik 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: kemungkinan 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).

2.11 Hukum Lima Lipinski

Lipinski *et al.* (1997) sudah menganalisis sekitar 2.245 obat dari data dasar World Drug Index. Kesimpulan yang didapatkan dari analisis tersebut yaitu senyawa akan sulit diabsorpsi dan permeabilitasnya rendah jika berat molekulnya lebih besar dari 500, nilai koefisien partisi oktanol/air ($\log P$) yang didapatkan lebih

besar +5, mempunyai ikatan- H donor (HBD) , yang dinyatakan dengan jumlah gugus O-H dan N-H lebih besar dari 5, dan memiliki ikatan-H reseptor (HBA) yang dinyatakan dengan jumlah atom O dan N lebih besar dari 10. Analisis seperti diata dikenal sebagai hukum lima Lipinski, karena semua nilai merupakan angka kelipatan lima. Prediksi sifat fisikokimia meliputi: Berat Molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktanol/air (Log P), jumlah ikatan antar atom yang berotasi (Torsion); *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), *Hydrogen Bond Donor* (HBD), dan *Polar Surface Activity* (PSA) dilakukan dengan menggunakan *pkCSM online tool* (Hardjono, 2016).

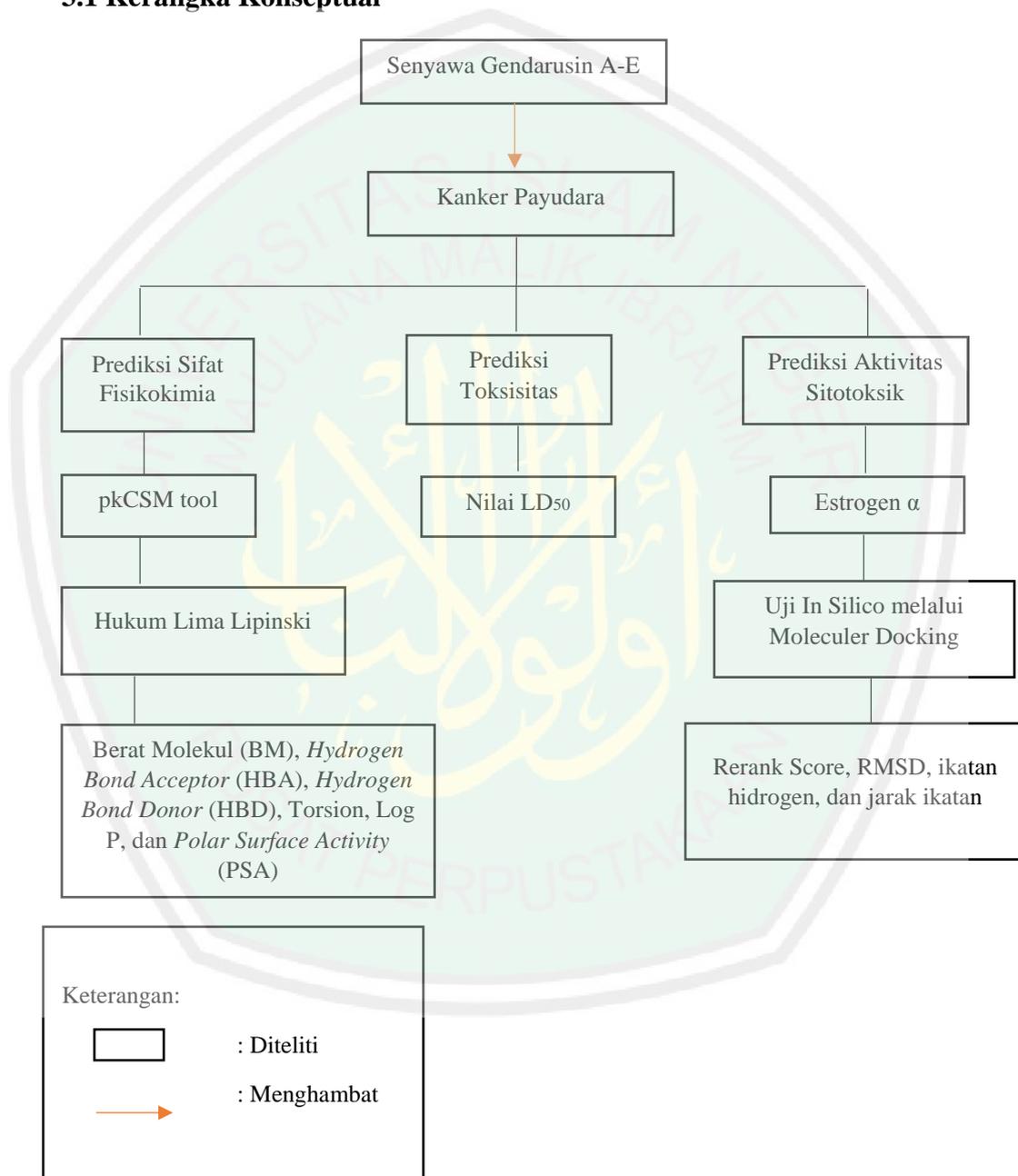


Gambar 2.9 Alur kerja aplikasi *pkCSM tool* (Pires *et al.*, 2015).

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konseptual



Gambar 3.1 Kerangka konseptual

3.2 Uraian Skema Kerangka Konseptual

Senyawa gendarusin A – E merupakan senyawa golongan flavonoid yang terdapat pada tanaman *Justicia gendarussa* Burm f. Senyawa golongan flavonoid mempunyai aktivitas sebagai antikanker dengan mekanisme kerja menghambat proliferasi sel kanker dan menginduksi apoptosis (Achmad *et al.*, 2014). Dengan adanya penelitian mengenai potensi tanaman gendarusa sebagai antikanker, maka perlu adanya penelitian mengenai sifat fisikokimia, aktivitas sitotoksik, dan toksisitas senyawa.

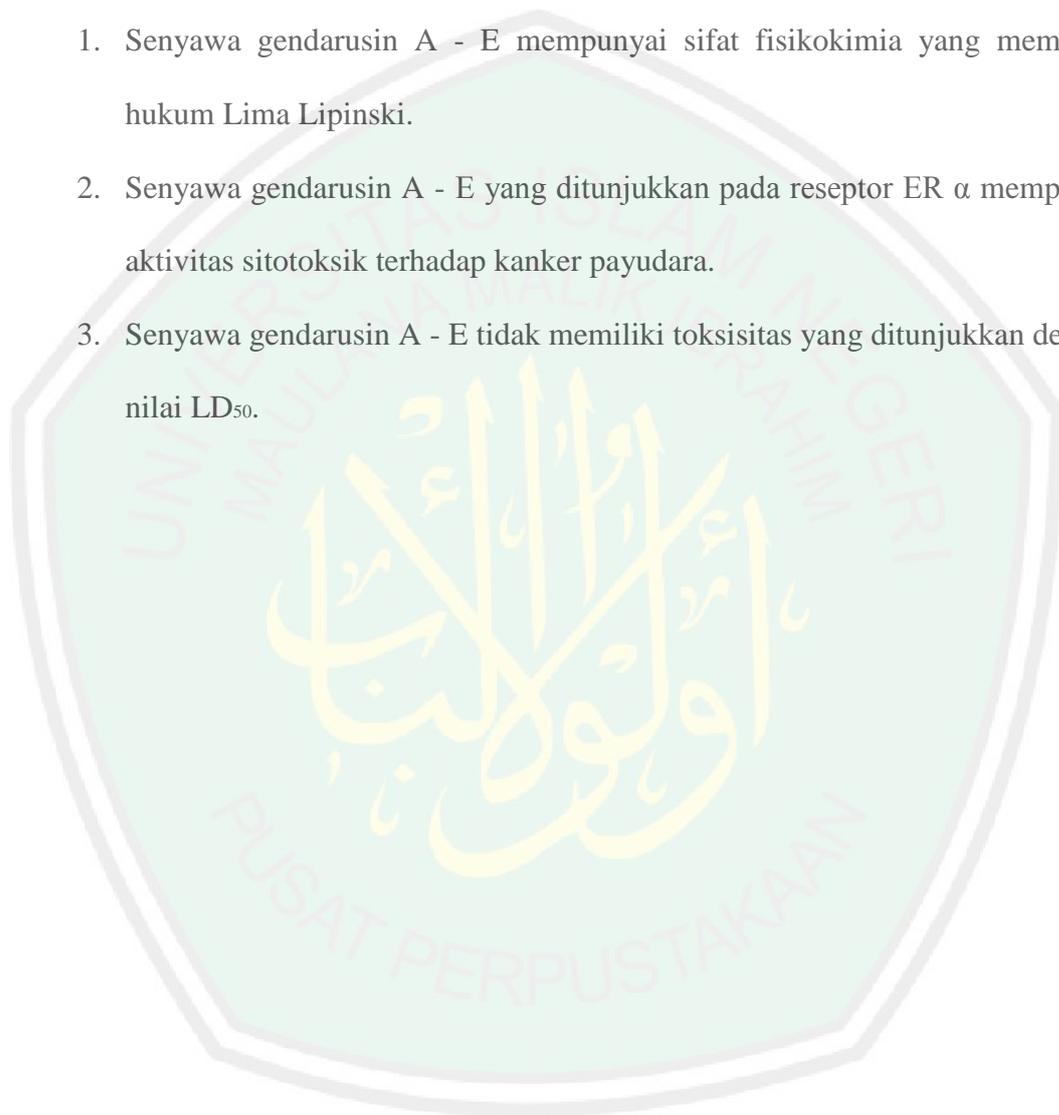
Prediksi sifat fisikokimia dari senyawa gendarusin A – E menggunakan aplikasi pkCSM tool dengan cara mengetahui kode senyawa pada *SMILES sehingga bisa mendapatkan parameter sifat fisikokimia berdasarkan hukum Lima Lipinski. Parameter sifat fisikokimia meliputi berat molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktanol/air (Log P), jumlah ikatan antar atom yang berotasi (Torsion); *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), *Hydrogen Bond Donor* (HBD), dan *Polar Surface Activity* (PSA) (Hardjono, 2016). Untuk prediksi uji toksisitas dilakukan berdasarkan kelas toksisitas yaitu LD₅₀, *Skin sensitization*, *Ames toxicity*, dan *Hepatotoxicity*.

Senyawa gendarusin A – E pada uji aktivitas sitotoksik digunakan sebagai ligan dari reseptor ER α dengan kode protein 2JF9. Ligan disiapkan dengan menggunakan aplikasi *Chem Bio Draw* versi 12 dalam bentuk 2D maupun 3D. Selanjutnya dilakukan docking dengan menggunakan *Molegro Virtual Docker* 6.0. Adanya interaksi dan afinitas yang ditimbulkan pada saat docking dapat dilihat dari

ikatan hidrogen, ikatan sterik, energi ikatan (Rerank Score), perbedaan jarak atom sejenis (RMSD), dan jarak ikatan.

3.3 Hipotesis

1. Senyawa gendarusin A - E mempunyai sifat fisikokimia yang memenuhi hukum Lima Lipinski.
2. Senyawa gendarusin A - E yang ditunjukkan pada reseptor ER α mempunyai aktivitas sitotoksik terhadap kanker payudara.
3. Senyawa gendarusin A - E tidak memiliki toksisitas yang ditunjukkan dengan nilai LD₅₀.



BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian yang digunakan merupakan jenis penelitian explanatory experiment. Penelitian ini bertujuan untuk menemukan sebuah data yang dapat memberikan definisi ataupun penjelasan terkait konsep yang digunakan yaitu metode *in silico* dari senyawa *gendarusin A-E* terhadap reseptor *Estrogen Alfa* (ER α) menggunakan aplikasi *Molegro Virtual Docker 6.0* (*Molegro ApS*).

4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

4.2.1 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan September – Desember 2019.

4.2.2 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.3.1 Variabel Penelitian

4.3.1.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian secara *in silico* ini yaitu senyawa *gendarusin A-E*.

4.3.1.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung pada penelitian *in silico* ini yaitu nilai RMSD, Rerank Score, ikatan hidrogen, ikatan sterik, jarak ikatan, berat molekul (BM), jumlah ikatan antar atom yang berotasi (Torsion); *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), *Hydrogen Bond Donor* (HBD), *Polar Surface Activity* (PSA), dan LD50.

4.3.1.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol pada penelitian secara *in silico* yaitu reseptor dari sel kanker payudara (*Estrogen α*) (PDB: 2JF9).

4.3.2 Definisi Operasional

1. Metode *In silico* merupakan suatu cara untuk mengembangkan obat baru yang bisa digunakan sebagai studi awal dan akan dilanjutkan dengan metode lain pada skala laboratorium (Rohmah, 2017).
2. Molegro Virtual Docker (MVD) merupakan suatu aplikasi yang digunakan untuk memprediksi cara ligan berinteraksi dengan makromolekul (CLCbio, 2013).
3. Rerank Score merupakan energi ikatan yang ditunjukkan melalui adanya jumlah energi yang dibutuhkan untuk membentuk ikatan antara ligan dan reseptor (Hardjono, 2016).
4. Root Mean Square Deviation (RMSD) merupakan parameter yang digunakan untuk mengevaluasi kemiripan dua buah struktur. Kemiripan diukur berdasarkan perbedaan jarak atom sejenis (Ruswanto, 2015).

5. Estrogen α (ER α) adalah ligan yang diaktifkan oleh transkripsi regulator yang merupakan pengatur utama proses diferensiasi dan proliferasi pada kanker payudara.

4.4 Alat dan Bahan Penelitian

4.4.1 Alat

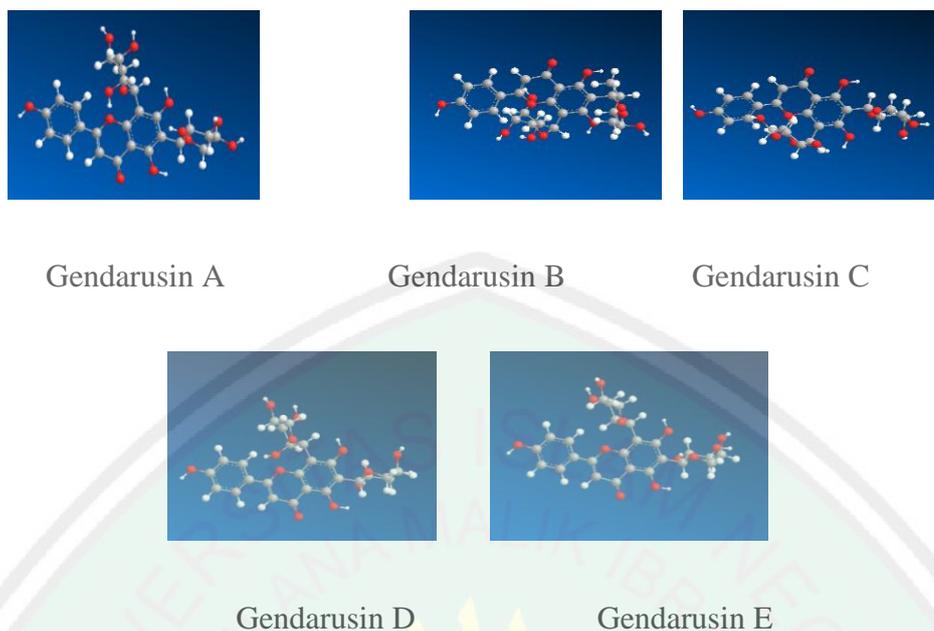
Alat yang digunakan berupa perangkat keras yaitu satu set laptop, RAM 4 GB, dan hardisk. Perangkat lunak yang digunakan berupa sistem operasi *Windows*™ *Seven Ultimate*, *Chem Bio Draw Ultra* Versi 12, *Chem Bio 3D Ultra* Versi 12, dan *Molegro Virtual Docker* 6.0 (*Molegro ApS*).

4.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu, struktur ligan senyawa gendarusin A – E dan struktur tiga dimensi pada reseptor *Estrogen Alfa* (ER α).

4.4.2.1 Struktur Ligan *Gendarusin A-E*

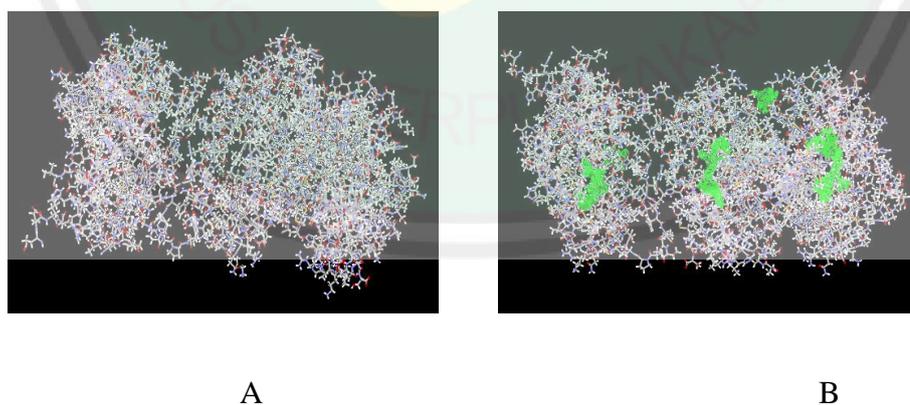
Ligan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu berupa struktur dari Gendarusin A-E. Struktur didapatkan dengan cara digambar menggunakan aplikasi *Chem Bio Draw Ultra* Versi 12 (*CambridgeSoft*) dan *Chem Bio 3D Ultra* Versi 12 (*CambridgeSoft*).



Gambar 4.1 Struktur Tiga Dimensi Gendarusin A – E

4.4.2.2 Struktur Tiga Dimensi *Estrogen Alfa* (ER α)

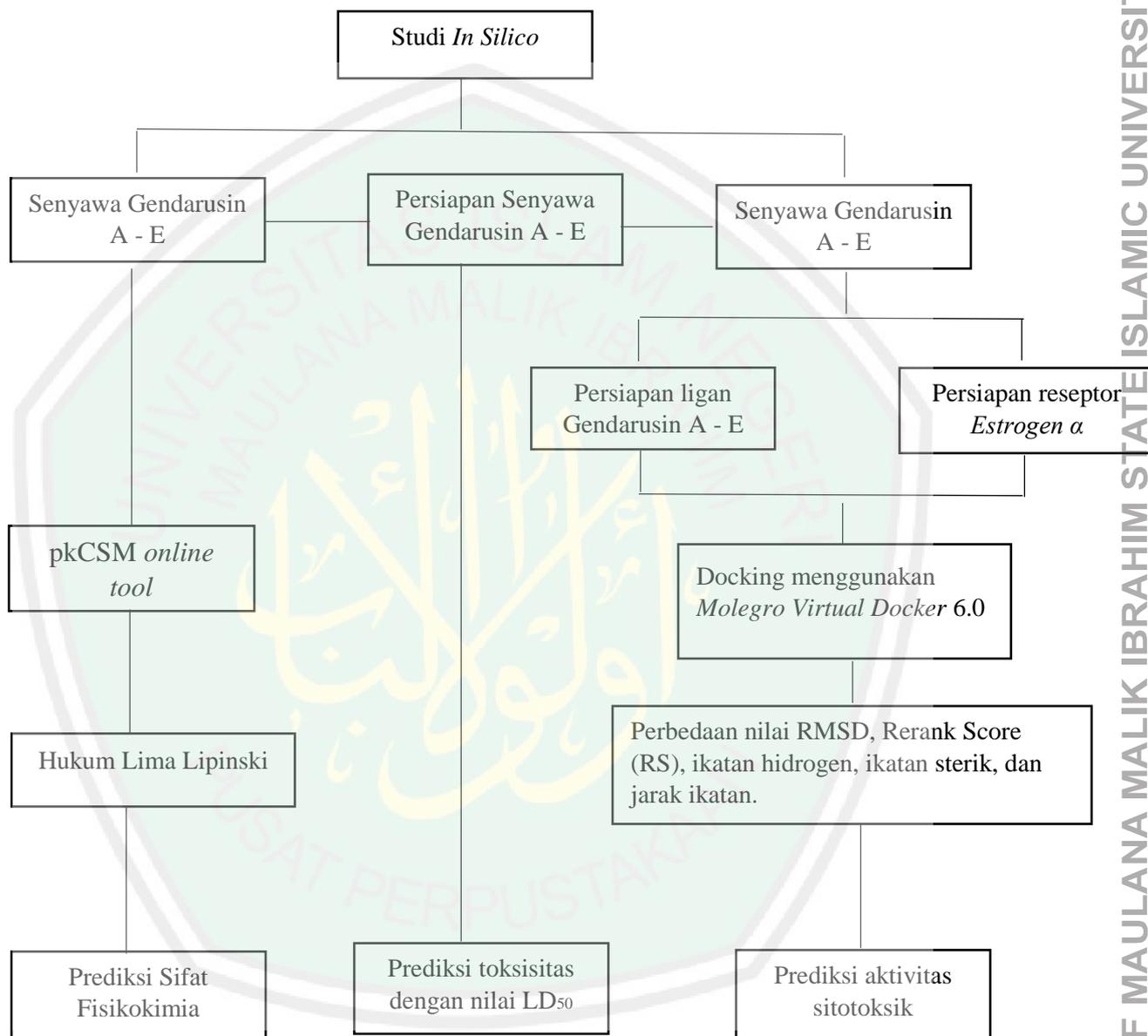
Struktur tiga dimensi *Estrogen Alfa* (ER α) dengan kode protein (2JF9) sebagai protein reseptor antikanker payudara yang dapat diunduh dari situs protein data bank (PDB) <https://www.rcsb.org/structure/2jf9>.



Gambar 4.2 (A) Struktur 3 dimensi *Estrogen Alfa* (ER α), (B) Struktur 3 dimensi *Estrogen Alfa* (ER α) dengan *cavity*

4.5 Skema Kerja dan Prosedur Penelitian

4.5.1 Skema Kerja



Gambar 4.3 Skema Kerja

4.5.2 Prosedur Penelitian

4.5.2.1 Preparasi Senyawa

Senyawa 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 referensi 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 *Estrogen Alfa (ER α)* harus mengandung ligan *tamoxifen* dengan nama IUPAC *(Z)-2-(4-1,2-diphenylbut-1-en-1-yl)phenoxy)-N,N-dimethylethamine*.
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, Aktivitas Sitotoksik, 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, *gendarusin A-E* dicari code SMILES dengan bantuan situs Online Smiles Translator (<https://cactus.nci.nih.gov/cgi-bin/translate.tcl>). 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 dikasifikasikan kedalam Hukum Lima Lipinski. Aktivitas sitotoksik didapatkan melalui *Rerank Score*, RMSD, jarak ikatan, ikatan hidrogen dan ikatan sterik. Sedangkan untuk memprediksi toksisitas senyawa (LD50) berdasarkan Globally Harmonized System (GHS) digunakan Prottox online tool (http://tox.charite.de/prottox_II/) dan toksisitas senyawa berdasarkan *skin sensitization*, *Ames toxicity*, *Hepatotoxicity* didapatkan melalui *pkCSM online tool* (Ruswanto dkk., 2017).

4.5.2.5 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 *Estrogen α* (**ER α**) 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 *gendarusin A - E* dengan terpenuhi hukum Lima Lipinski *Estrogen Alfa* (ER α). Analisis data prediksi sifat fisikoimia dengan mengetahui berat molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktanol/air (Log P), Lipinski. Analisis data toksisitas senyawa *Gendarusin A-E* dikategorikan berdasarkan LD50 dan ditentukan kelas toksisitasnya menggunakan *Protox II online tool*. Hasil yang didapatkan akan dipaparkan dalam bentuk tabel.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Molegro Virtual Docker

Penggunaan aplikasi Molegro Virtual Docker ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas dan ikatan hidrogen dengan asam amino dari senyawa gendarusin A-E. Pendekatan *in silico* menggunakan aplikasi ini dilakukan dengan cara skrining virtual untuk menemukan kandidat obat baru. Kelebihan dari Molegro Virtual Docker (MVD) yaitu mempunyai ketepatan akurasi yang baik dibandingkan dengan aplikasi lainnya. MVD mempunyai cavity (lubang) sehingga lebih mudah mengetahui tempat ligan berinteraksi dengan reseptor secara tepat.

5.2 Interpretasi Data dengan Hasil

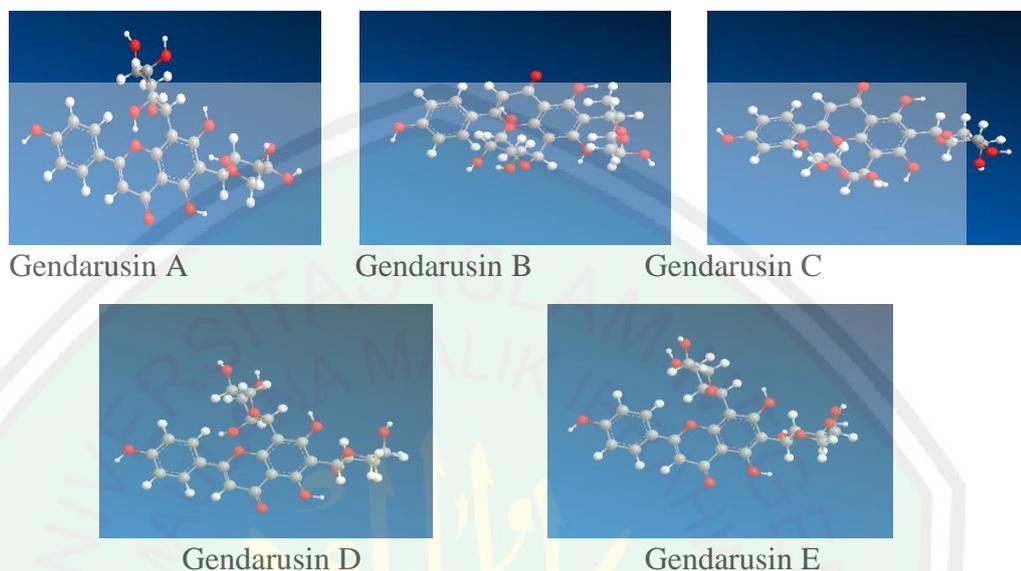
5.2.1 Pengunduhan Protein Reseptor

Protein reseptor Estrogen Alfa ($ER \alpha$) dapat diunduh dari situs (<https://www.rcsb.org/>) dengan format *pdb. Reseptor $ER \alpha$ diunduh berdasarkan protein reseptor yang sudah mempunyai ligan. Reseptor $ER \alpha$ mempunyai code pdb: 2JF9. Pemilihan kode ini karena 2JF9 merupakan kode pdb estrogen alfa dengan tamoxifen yang mempunyai sifat antagonis.

5.2.2 Pembuatan Struktur Dua Dimensi (2D) dan Tiga Dimensi (3D)

Struktur dua dimensi senyawa gendarusin A-E digambar terlebih dahulu sebelum dilakukan uji *in silico* menggunakan aplikasi ChemBioDraw Ultra 12.0. Hasil dari gambar dua dimensi digunakan untuk membuat struktur tiga dimensi menggunakan aplikasi ChemBio 3D Ultra 12.0. Hal ini perlu dilakukan untuk

melanjutkan proses *docking*, karena pada saat *docking* menggunakan struktur tiga dimensi.



Gambar 5.1 Struktur Tiga Dimensi Gendarusin A – E

Dari gambar 5.1 didapatkan struktur tiga dimensi dari senyawa gendarusin A-E. Hasil gambar tersebut digunakan untuk menentukan code SMILES, energi minimal dari senyawa gendarusin A-E, penentuan sifat fisikokimia menggunakan *pkCSM Online Tool*, penentuan aktivitas sitotoksik menggunakan *Molegro Virtual Docker*, dan penentuan toksisitas senyawa gendarusin A-E menggunakan *Protox II Online Tool*.

5.2.3 Pembuatan Code SMILES dan Penentuan Energi Minimal

Pembuatan code SMILES dilakukan menggunakan program Online SMILES Translator (<https://cactus.nci.nih.gov/translate/>). Code SMILES (*Simplified Molecular Input Line Entry System*) dari senyawa gendarusin A-E didapatkan dengan cara meletakkan file senyawa dua dimensi gendarusin A-E dalam bentuk mol2. Setelah itu klik translate untuk mendapatkan code SMILES dan disimpan

untuk melakukan uji selanjutnya. Senyawa pembanding didapatkan dari senyawa yang berperan sebagai inhibitor pada reseptor Estrogen Alfa (ER α). Senyawa tersebut yaitu (Z)-2-(4-1,2-diphenylbut-1-en-1-yl)phenoxy)-N,N-dimethylethamine (Tamoxifen).

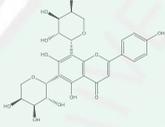
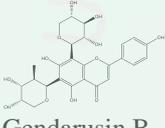
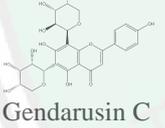
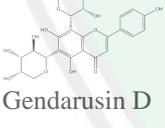
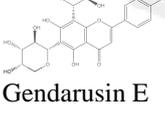
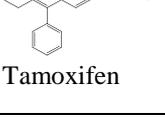
Tabel 5.1 Hasil code SMILES senyawa Gendarusin A-E dan Tamoxifen

Nama Senyawa	Kode SMILES
 Gendarusin A	<chem>OC1COC(C(O)C1O)C2=C(O)C3=C(OC(=CC3=O)C4=CC=C(O)C=C4)C(=C2O)C5OCC(O)C(O)C5O</chem>
 Gendarusin B	<chem>CC1C(O)C(O)COC1C2=C(O)C3=C(OC(=CC3=O)C4=CC=C(O)C=C4)C(=C2O)C5OCC(O)C(O)C5O</chem>
 Gendarusin C	<chem>OC1COC(C(O)C1O)C2=C(O)C3=C(OC(=CC3=O)C4=CC=C(O)C=C4)C(=C2O)C5OCC(O)C(O)C5O</chem>
 Gendarusin D	<chem>OC1COC(C(O)C1O)C2=C(O)C3=C(OC(=CC3=O)C4=CC=C(O)C=C4)C(=C2O)C5OCC(O)C(O)C5O</chem>
 Gendarusin E	<chem>OC1COC(C(O)C1O)C2=C(O)C3=C(OC(=CC3=O)C4=CC=C(O)C=C4)C(=C2O)C5OCC(O)C(O)C5O</chem>
 Tamoxifen	<chem>CC\C(C1=CC=CC=C1)=C/C2=CC=CC=C2)C3=CC=C(OCCN(C)C)C=C3</chem>

Dari tabel 5.1 diatas didapatkan Code SMILES yang akan digunakan untuk melakukan prediksi sifat fisikokimia menggunakan *pkCSM Online Tool* dan mengetahui toksisitas dari senyawa gendarusin A-E menggunakan aplikasi *Protox II Online Tool*.

Penentuan energi minimal dari senyawa *gendarusin A-E* dilakukan menggunakan program ChemBio3D ultra 12.00 dengan tiga kali replikasi menggunakan metode *MMFF94 predict minimization*. Hal ini dilakukan untuk menentukan energi seminimal mungkin pada bentuk stereokimia dan bentuk yang paling stabil untuk melakukan *docking* dengan reseptor target.

Tabel 5.2 Hasil penentuan energi minimal senyawa *Gendarusin A-E*

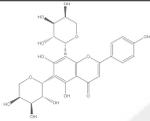
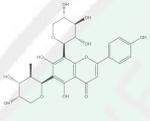
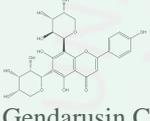
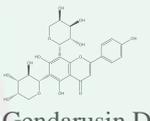
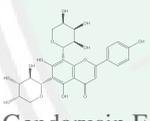
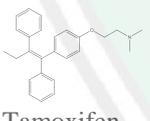
Nama Senyawa	Energi Minimal (Kkal/mol)			Rata-rata (Kkal/mol)
	Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	
 Gendarusin A	192.275	192.274	192.274	192.274,33
 Gendarusin B	189.779	189.779	189.778	189.778,67
 Gendarusin C	203.424	203.328	203.327	203.359,67
 Gendarusin D	201.241	201.241	201.240	201.240,67
 Gendarusin E	195.349	195.348	195.348	195.348,33
 Tamoxifen	103.545	103.544	103.544	103.544,33

Pada tabel 5.2 didapatkan energi minimal dan dihasilkan bentuk yang paling stabil. Berdasarkan hasil tersebut senyawa *gendarusin B* mempunyai energi minimal paling kecil yaitu 189.778,67 Kkal/mol. Hal tersebut berarti senyawa *gendarusin B* merupakan senyawa dengan bentuk paling stabil dibandingkan senyawa lainnya.

5.2.4 Prediksi Sifat Fisikokimia

Parameter yang digunakan untuk melakukan prediksi sifat fisikokimia yaitu 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). Penentuan kelima parameter tersebut dilakukan dengan cara memasukkan code SMILES pada aplikasi *pkCSM Online Tool*.

Tabel 5.3 Hasil penentuan sifat fisikokimia dan penerapan hukum Lima Lipinski terhadap senyawa *gendarusin A-E* dan *tamoxifen*.

Nama Senyawa	Parameter Hukum Lima Lipinski						Penerapan Hukum Lima Lipinski
	BM	Log P	Torsion	HBA	HBD	PSA (A ²)	
 Gendarusin A	534.47	-1.1152	3	13	9	213.149	Tidak
 Gendarusin B	532.498	0.16	3	12	8	214.720	Tidak
 Gendarusin C	534.47	-1.1152	3	13	9	213.149	Tidak
 Gendarusin D	534.47	-1.1152	3	13	9	213.149	Tidak
 Gendarusin E	534.47	-1.1152	3	13	9	213.149	Tidak
 Tamoxifen	371.524	5.9961	8	2	0	168.649	Tidak

Keterangan (Syarat memenuhi hukum Lima Lipinski):

BM : Berat Molekul <500

Log P : Koefisien Partisi <5

Torsion : Ikatan H yang dapat berotasi 0-15

HBA : Jumlah atom O dan N <10

HBD : Jumlah atom NH dan OH <5

PSA (A²) : Luas Permukaan <140 A²

Dari tabel 5.3 menunjukkan hasil bahwa senyawa *gendarusin A-E* dan senyawa pembanding tamoxifen tidak memenuhi hukum lima lipinski. Hal tersebut berarti senyawa *gendarusin A-E* dan juga tamoxifen mempunyai absorpsi dan permeabilitas yang rendah. Menurut Lipinski *et al.*, (1997) senyawa akan sulit diabsorpsi dan permeabilitasnya rendah jika berat molekulnya lebih besar dari 500, nilai koefisien partisi oktanol/air ($\log P$) yang didapatkan lebih besar +5, mempunyai ikatan- H donor (HBD) , yang dinyatakan dengan jumlah gugus O-H dan N-H lebih besar dari 5, dan memiliki ikatan-H reseptor (HBA) yang dinyatakan dengan jumlah atom O dan N lebih besar dari 10.

Menurut Lipinski *et al.*, (1997) aturan lipinski digunakan untuk menentukan karakter hidrofilik suatu senyawa untuk melalui membran sel oleh difusi pasif. Nilai $\log P$ menyatakan koefisien kelarutan dalam lemak atau air dalam rentang -0,4-5. Semakin besar nilai $\log P$, maka semakin hidrofobik molekul tersebut. Jika molekul memiliki sifat terlalu hidrofobik, maka cenderung mempunyai toksisitas lebih tinggi karena akan lebih lama tertahan pada lipid bilayer dan terdistribusi luas didalam tubuh sehingga selektivitas ikatan terhadap enzim berkurang. Jika nilai nilai $\log P$ terlalu negatif itu tidak baik, karena tidak melewati membran lipid bilayer. Jika hasil berat molekul suatu senyawa >500 , maka senyawa tersebut tidak dapat berdifusi menembus membran sel. Jumlah ikatan HBA (*Hydrogen Bond Acceptor*) dan HBD (*Hydrogen Bond Donor*) mendeskripsikan semakin tinggi kapasitas dari ikatan hidrogen, maka semakin tinggi energi yang dibutuhkan agar proses absorpsi suatu obat dapat terjadi. Gambaran umum dari aturan Lipinski yakni solubilitas senyawa tertentu untuk menembus membran sel oleh difusi pasif.

Menurut Saifuddin *et al.*, (2014) prediksi sifat fisikokimia senyawa gendarusin A-E menggunakan aplikasi ACD/I-Lab Online mempunyai absorpsi dan permeabilitas yang rendah dengan rata-rata berat molekul 534,47, log P -2,27, HBD 9, dan HBA 4. Hasil prediksi tersebut tidak memenuhi persyaratan hukum Lima Lipinski sehingga sulit untuk diabsorpsi dan mempunyai permeabilitas yang rendah. Menurut Wagh (2010), senyawa yang sulit diabsorpsi dan mempunyai permeabilitas rendah tergolong BCS (*Biopharmaceutical Clasification*) kelas 4. Kelas 4 merupakan keadaan dimana senyawa sulit menembus mukosa usus dan sukar larut, terkadang bisa larut namun permeabilitasnya rendah.

Selanjutnya dilakukan prediksi ADME (absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi) dengan cara memasukkan code SMILES yang didapatkan dari SMILES translator ke dalam aplikasi *pkCSM online tool*. Code SMILES dari masing-masing senyawa gendarusin A-E dan tamoxifen dimasukkan ke dalam aplikasi tersebut dan akan keluar hasilnya.

Tabel 5.4 Hasil Prediksi ADME Senyawa *Gendarusin A-E* dan *Tamoxifen*.

Kategori Prediksi		Hasil					
		Gendarusin A	Gendarusin B	Gendarusin C	Gendarusin D	Gendarusin E	Tamoxifen
Absorpsi	Absorpsi pada usus (%)	34.332	45.273	34.332	34.332	34.332	97.341
	Permeabilitas Pada kulit (Log Kp)	-2.735	-2.735	-2.375	-2.735	-2.735	-2.736
	Permeabilitas Caco-2(Log Ppap in 10 ⁻⁶ cm/s)	-0,47	-0.424	-0.47	-0.47	-0.47	1.125
	P-glycoprotein substrate	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya	Ya
	P-glycoprotein I inhibitor	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Ya
	P-glycoprotein II inhibitor	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Ya
Distribusi	Vdss (Log L/kg)	0.296	0.364	0.296	0.296	0.296	0.616
	Permeabilitas BBB (Log BB)	-2.106	-1.961	-2.106	-2.106	-2.106	1.325
	Permeabilitas CNS (Log PS)	-5.03	-4.703	-5.03	-5.03	-5.03	-1.405
	CYP2D6 substrate	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Metabolisme	CYP3A4 substrate	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Ya
	CYP1A2 inhibitor	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Ya
	CYP2C19 inhibitor	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
	CYP2C9 inhibitor	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
	CYP2D6 inhibitor	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Ya
	CYP3A4 inhibitor	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Ya
Ekskresi	Total Clearance (Log mg/kg/hari)	0.134	0.054	0.134	0.134	0,134	0.615
	Renal OCT2 substrate	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak

Keterangan	:
VDSS	: Volume of Distribution at Steady State
BBB	: Blood Brain Barier
CNS	: Central Nervous System
CYP2D6	: Sitokrom P2D
CYP3A4	: Sitokrom 3A4
CYP1A2	: Sitokrom 1A2
CYP2C19	: Sitokrom 2C1
CYP2C9	: Sitokrom 2C9
Renal OCT2	: Renal Organic Cation Transporter

Dari tabel 5.4 menunjukkan hasil penyerapan pada usus dalam % senyawa *gendarusin A, C, D, dan E* sebesar 34,332, sedangkan senyawa *gendarusin B* sebesar 45,273 dan pada *tamoxifen* sebagai pembanding sebesar 97,341. Hal itu dapat diprediksi bahwa senyawa *gendarusin A-E* mempunyai absorpsi yang jelek pada usus. Menurut Hardjono (2016) senyawa dengan absorpsi yang baik mempunyai nilai >80% dan absorpsi yang jelek dengan nilai >30%.

Menurut Pires *et al.*, (2015) senyawa dikatakan mempunyai permeabilitas rendah bila nilai Log Kp sebesar <-2,5. Dari tabel 5.4 dapat diketahui nilai Log Kp dari senyawa *gendarusin A-E* dan *tamoxifen* sebesar -2,735 sampai -2,736. Hasil ini menunjukkan bahwa kelima senyawa tersebut mempunyai permeabilitas kulit yang bagus. Permeabilitas Caco-2 (Sel Lapis Tunggal) mempunyai hasil pada senyawa *gendarusin A, C, D, E* sebesar -0,47 sedangkan pada *gendarusin B* sebesar -0,424 dan *tamoxifen* 1,125. Menurut Pires *et al* (2015) senyawa yang mempunyai nilai Log Ppap >8 x 10⁻⁶cm/s merupakan senyawa dengan permeabilitas Caco-2 yang tinggi. Menurut Broccatelli *et al.*, (2011) P-glikoprotein (Pgp) merupakan

protein yang terlibat dalam absorpsi pada usus dan metabolisme obat. Pgp juga dapat digunakan untuk mengatasi terjadinya resistensi pada obat. Hasil yang terdapat pada tabel 5.4 menunjukkan bahwa senyawa *gendarusin A-E* dan *tamoxifen* diabsorpsi melalui P glikoprotein. Pada P- glikoprotein I dan II senyawa *gendarusin A-E* tidak diabsorpsi, sedangkan *tamoxifen* diabsorpsi. Hal ini dapat mempengaruhi sifat antagonis dari *tamoxifen*. Menurut Sianipar *et al.*, (2018) adanya penurunan sensitivitas sampai resistensi sering terjadi dalam pengobatan kanker payudara dalam jangka panjang yang disebabkan oleh peningkatan ekspresi transporter efluks *P-glikoprotein* (Pgp) dan *Breast Cancer Resistance Protein* (BCRP).

Pada tabel 5.4 menunjukkan hasil nilai V_{dss} (Volum Distribusi) senyawa *gendarusin A-E* sebesar 0,296-0,364 dan pada *tamoxifen* sebesar 0,616. Menurut Pires *et al.*, (2015) senyawa dinyatakan mempunyai V_{dss} rendah jika nilai $\log V_d < -0,15$ dan V_{dss} tinggi jika nilai $\log V_d > 0,45$. Hasil yang didapatkan dari penelitian ini dapat diprediksi mempunyai nilai V_{dss} yang tinggi dengan rentan 0,296-0,364 yang berarti senyawa *gendarusin A-E* didistribusikan secara merata untuk memberikan konsentrasi yang sama seperti pada plasma darah.

Parameter selanjutnya pada proses distribusi yaitu permeabilitas BBB (Blood Brain Barrier) yang digunakan untuk mengurangi toksisitas dan meningkatkan aktivitas farmakologi obat dalam otak. Permeabilitas BB pada senyawa *gendarusin A-E* berkisar antara -1,961 sampai -2,106 sedangkan pada *tamoxifen* nilai $\log BB$ sebesar 1,325. Hasil ini dapat diprediksi bahwa kelima senyawa tersebut tidak mampu terdistribusi dengan baik menembus sawar darah otak. Menurut Pires *et al.*,

(2015) senyawa yang dapat menembus sawar darah otak dengan baik mempunyai nilai Log BB >0.3 dan jika nilai Log BB <-1 dikatakan tidak dapat menembus sawar darah otak dengan baik.

Dari tabel 5.4 permeabilitas CNS (Central Nervous System) pada senyawa *gendarusin A-E* mempunyai nilai Log PS sebesar $-4,703$ sampai $-5,03$ sedangkan tamoxifen sebesar $-1,405$. Hasil tersebut menunjukkan bahwa senyawa *gendarusin A-E* tidak dapat menembus sistem saraf pusat (CNS) karena mempunyai nilai Log PS <-3 . Menurut Pires *et al.*, (2015) senyawa dapat menembus sistem saraf pusat jika mempunyai nilai Log PS sebesar >-2 dan jika Log PS <-3 dinyatakan tidak dapat menembus CNS.

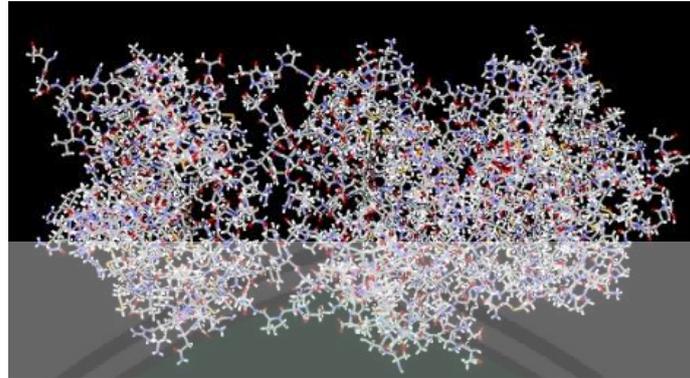
Menurut Hardjono (2016), CYP2D6 merupakan suatu enzim yang berperan dalam proses metabolisme. Enzim ini digunakan untuk menilai kemampuan dari suatu senyawa yang dapat menghambat sitokrom P450. Sitokrom P450 adalah enzim detoksifikasi yang banyak ditemukan di hati. Substrat CYP3A4 adalah sitokrom P450 3A4 yang berarti sitokrom P450, famili 3, subfamili A, dan polipeptida 4 (enzim yang penting setelah obat menyebar dalam tubuh). CYP2C19 bertanggung jawab pada berbagai macam metabolisme obat, termasuk inhibitor pompa proton (PPI). Inhibitor ini berasal dari enzim CYP2C19. Enzim ini terlibat dalam proses metabolisme obat sebesar 20%, sedangkan CYP2C9 terlibat 10% dalam metabolisme obat. Dari tabel 5.4 didapatkan hasil senyawa *gendarusin A-E* tidak akan dimetabolisme oleh semua inhibitor. Sementara *tamoxifen* sebagai senyawa pembanding dimetabolisme oleh CYP3A4 substrate, CYP1A2 inhibitor, CYP2D6 inhibitor, dan CYP3A4 inhibitor.

Menurut Hardjono (2016) memprediksi proses ekskresi suatu senyawa dapat dilakukan dengan cara mengukur tetapan *Total Clearance* (CLTOT) dan *Renal Organic Cation Transporter 2* (OCT 2) *Substrate*. CLTOT (*Total Clearance*) adalah kombinasi dari *hepatic clearance* (metabolisme di hati dan empedu), sedangkan OCT2 (*Renal Organic Cation Transporter 2*) adalah transporter pada ginjal yang berperan penting dalam disposisi dan clearance obat-obatan dari senyawa endogen (ekskresi melalui ginjal). Kedua cara tersebut berkaitan dengan bioavailabilitas dan penentuan tingkat dosis untuk mencapai konsentrasi *steady-state*. Dari tabel 5.4 hasil total clearance dari senyawa *gendarusin A-E* sebesar 0,134-0,054 dan pada *tamoxifen* sebesar 0,615. Hasil Renal OCT dari senyawa *gendarusin A-E* dan *tamoxifen* tidak berikatan, sehingga dapat diprediksi kelima senyawa tersebut bukan termasuk substrat OCT2.

5.2.5 Proses Docking dan Analisis Asam Amino

5.2.5.1 Preparasi Protein Estrogen Alfa

Preparasi protein dimulai dari proses pengunduhan data dari file PDB (*Protein Data Bank*) melalui <http://www.rcsb.org/pdb/>. Protein yang diunduh dari reseptor Estrogen Alfa dengan kode 2JF9 akan diamati menggunakan aplikasi *Molegro Virtual Docker*.



Gambar 5.2 Reseptor Estrogen Alfa (2JF9)

5.2.5.2 Penentuan *Cavity* (Lubang)

Penentuan *cavity* dilakukan untuk mendeteksi tempat yang berinteraksi antara ligan dan protein pada reseptor Estrogen Alfa.



Gambar 5.3 Hasil deteksi lubang (*cavity*) pada reseptor Estrogen Alfa

Keterangan:

Cavity 1 dengan Volume 152.576 dan Surface 448

Cavity 2 dengan Volume 138.24 dan Surface 371.2

Cavity 3 dengan Volume 119.808 dan Surface 290.56

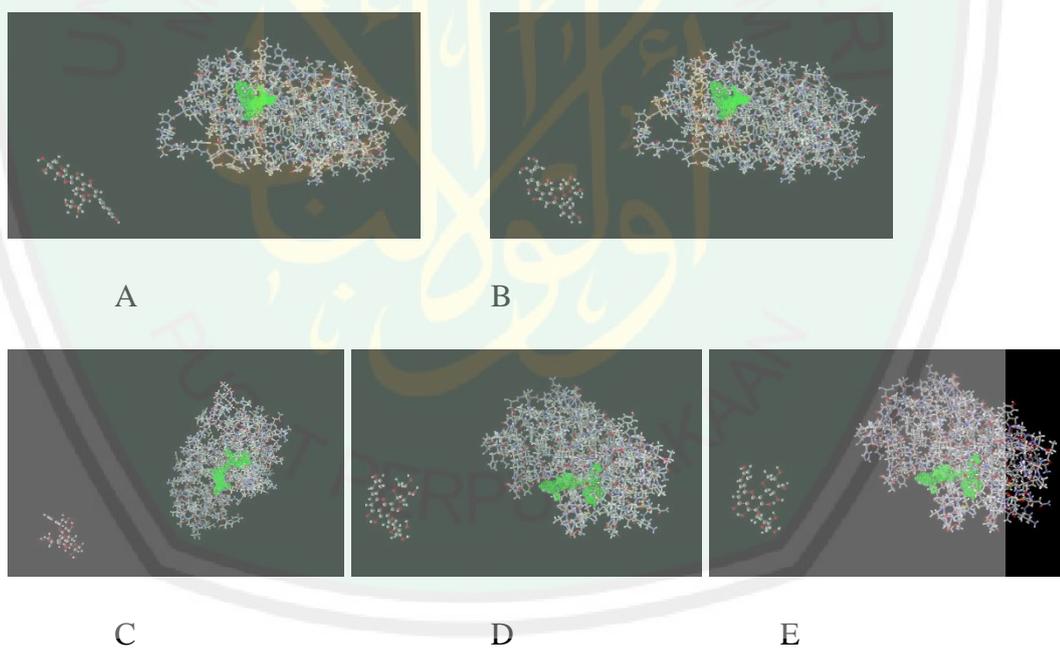
Cavity 4 dengan Volume 92.672 dan Surface 283

Cavity 5 dengan Volume 80.896 dan Surface 263.68

Lubang (*Cavity*) yang digunakan yaitu *Cavity* 1 dengan volume 152.576 dan luas permukaan 448. Lubang tersebut digunakan karena mempunyai native ligan yang berikatan dengan reseptor dan mempunyai nilai RMSD <2, sehingga mempunyai potensi sebagai lubang aktif reseptor.

5.2.5.3 Validasi Reseptor Estrogen Alfa (2JF9)

Validasi reseptor dilakukan menggunakan aplikasi *Molegro Virtual Docker* 6.0 dengan cara melakukan docking ulang native ligan pada lubang reseptor. Hasil validasi berupa nilai RMSD (Root Mean Square Deviation), nilai ideal RMSD yaitu < 2 Å (Pratama, 2016).



Gambar 5.4 Docking *Cavity* I dan Chain A pada senyawa *Gendarusin* A-E

Tabel 5.5 Hasil Validasi Reseptor

Ligan Reseptor (2JF9)	Nilai RMSD (Å)
ER α (A)	0.81054
ER α (B)	58.3341
ER α (C)	58.3149

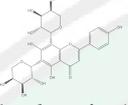
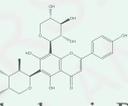
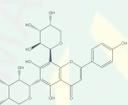
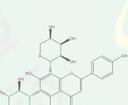
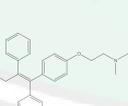
Dari tabel 5.5 reseptor estrogen alfa (2JF9) mempunyai tiga protein yang berbeda yaitu ER α (A), ER α (B), dan ER α (C). Hasil RMSD yang didapatkan dari ketiga protein tersebut secara berurutan yaitu 0.81054; 58.3342; dan 58.3149. Dari ketiga hasil tersebut dipilih protein ER α (A) untuk digunakan pada proses penentuan *docking score* karena mempunyai nilai RMSD paling rendah yaitu 0.81054.

5.2.5.4 Docking Score

1. Hasil Docking Senyawa *Gendarusin A-E* dan *Tamoxifen* pada Reseptor Estrogen Alfa

Hasil docking dari senyawa *gendarusin A-E* dan *tamoxifen* pada reseptor estrogen alfa didapatkan dari proses docking masing-masing senyawa menggunakan aplikasi *Molegro Virtual Docker*.

Tabel 5.6 Hasil Docking Score Senyawa Gendarusin A-E dan Tamoxifen pada Reseptor Estrogen Alfa

Reseptor	Senyawa	Parameter Score	Replikasi			Rata-rata (Kkal/mol)
			Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	
Estrogen Alfa ($E\alpha$)	 Gendarusin A	MolDock Score	-69.3788	-66.5081	-66.4802	-67,4577
		Rerank Score	-71.7449	-70.5835	-70.6169	-70,9817
		H-Bond	-10.7285	-8.96172	-8.95669	-9,5489
	 Gendarusin B	MolDock Score	-69.5914	-64.3585	-64.4346	-66,1281
		Rerank Score	-71.1136	-67.7888	-67.9432	-68,9485
		H-Bond	-5.1603	-7.0175	-6.90808	-6,3619
	 Gendarusin C	MolDock Score	-79.0894	-79.1199	-79.3197	-79,1763
		Rerank Score	-68.535	-68.5785	-64.2955	-67,1363
		H-Bond	-1.33455	-1.42124	-13.8929	-5,5495
	 Gendarusin D	MolDock Score	-64.8505	-62.4042	-64.4638	-63,9061
		Rerank Score	-68.8571	-65.3929	-68.7489	-67,6663
		H-Bond	-11.9924	-6.4468	-6.42871	-8,2893
	 Gendarusin E	MolDock Score	-70.5415	-70.9774	-73.2067	-71,5752
		Rerank Score	-69.3991	-69.8948	-69.5632	-69,6190
		H-Bond	-4.68361	-4.94958	-14.1397	-7,9242
	 Tamoxifen	MolDock Score	-128.136	-128.57	-128.551	-128,419
		Rerank Score	-100.542	-101.687	-101.633	-101,287
		H-Bond	0	0	0	0

Keterangan:

Moldock Score : turunan dari fungsi PLP untuk ikatan sterik dan interaksi hidrogen (Kkal/mol)

Rerank Score : energi hasil interaksi antara senyawa dengan reseptor (Kkal/mol).

H-Bond : energi ikatan hidrogen (Kkal/mol).

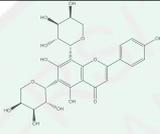
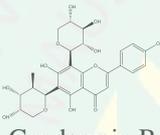
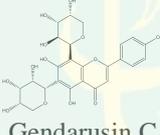
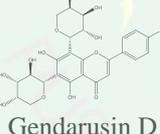
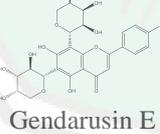
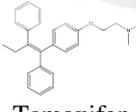
Tahap selanjutnya yakni penentuan docking score menggunakan aplikasi *Molegro Virtual Docker 6.0*, penentuan ini menggunakan tiga parameter yaitu MolDock Score, Rerank Score, dan H-Bond yang dilakukan dengan tiga kali replikasi. Menurut CLCbio (2013) MolDock Score, Rerank Score, dan H-Bond merupakan parameter yang digunakan untuk mengukur kekuatan ikatan obat dengan reseptor. Berdasarkan tabel 5.6 hasil rata-rata yang didapatkan untuk MolDock Score senyawa gendarusin A sebesar -67,4577, pada gendarusin B -66,1281, gendarusin C -79,1763, gendarusin D -63,9061, gendarusin E -71,5752, dan tamoxifen -127,236. Untuk Rerank Score rata-rata yang didapatkan pada senyawa gendarusin A sebesar -70,9817, gendarusin B -68,9485, gendarusin C -67,1363, gendarusin D -67,6663, dan gendarusin E -69,6190. Untuk ikatan H didapatkan hasil rata-rata dari senyawa gendarusin A sebesar -9,5489, gendarusin B -6,3619, gendarusin C -5,5495, gendarusin D -8,2893, gendarusin E -7,9242, dan tamoxifen 0.

2. Penentuan Energi Ikatan

Penentuan energi ikatan antara ligan dan reseptor dilakukan pada saat proses docking. Menurut Hardjono (2016) *Rerank Score* merupakan energi ikatan yang ditunjukkan melalui adanya jumlah energi yang dibutuhkan untuk membentuk ikatan

antara ligan dan reseptor. Nilai ini digunakan untuk mencari konformasi ligan yang relevan dengan cara melihat nilai yang paling rendah dan mengevaluasi kualitas docking.

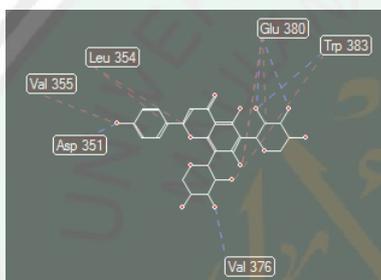
Tabel 5.7 Hasil *Rerank Score* Senyawa *Gendarusin A-E* dan *Tamoxifen* Terhadap Reseptor Estrogen Alfa.

Reseptor	Senyawa	Replikasi			Rata-rata	Satndar Deviasi (SD)
		Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III		
Estrogen Alfa	 Gendarusin A	-71.7449	-70.5835	-70.6169	-70,9817	0,6611
	 Gendarusin B	-71.1136	-67.7888	-67.9432	-68,9485	1,8765
	 Gendarusin C	-68.535	-68.5785	-64.2955	-67,1363	2,4603
	 Gendarusin D	-68.8571	-65.3929	-68.7489	-67,6663	1,9695
	 Gendarusin E	-69.3991	-69.8948	-69.5632	-69,6190	0,2525
	 Tamoxifen	-100.542	-101.687	-101.633	-101,287	0,6460

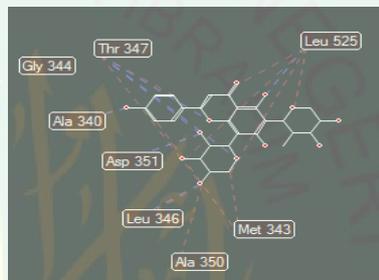
Dari tabel 5.7 hasil *Rerank Score* dari kelima senyawa tersebut *gendarusin A* merupakan senyawa yang mempunyai *Rerank Score* yang paling kecil

dibandingkan senyawa lainnya yaitu -70,9817. Hal ini berarti senyawa *gendarusin A* mempunyai afinitas lebih tinggi dibandingkan senyawa yang lain dan mendekati dengan *Rerank Score* dari tamoxifen sebagai variabel kontrol. Menurut Hardjono (2016) semakin kecil nilai energi ikatan yang didapatkan maka ikatan tersebut semakin stabil, dan jika semakin stabil ikatan ligan dengan reseptor maka bisa dikatakan bahwa aktivitas senyawa tersebut semakin besar.

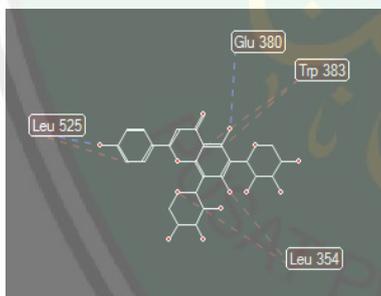
5.2.5.5 Interaksi Senyawa dengan Asam Amino



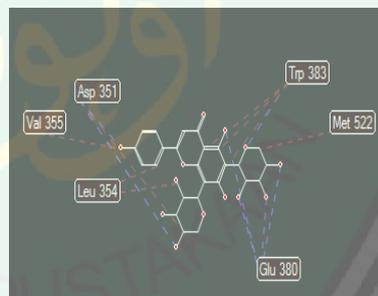
A



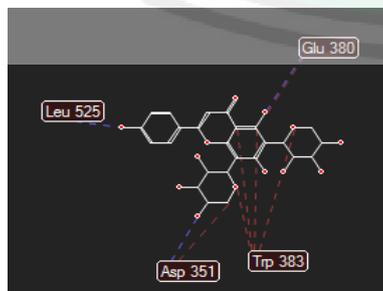
B



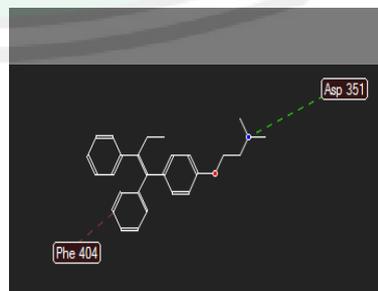
C



D



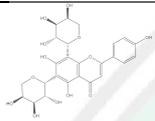
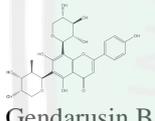
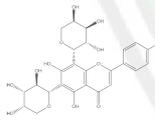
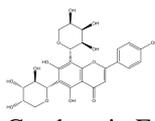
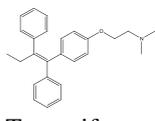
E



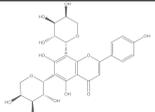
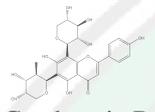
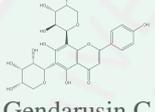
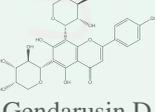
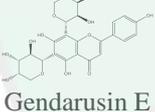
F

Gambar 5.5 Bentuk dua dimensi ikatan hidrogen Gendarusin A (A), gendarusin B (B), gendarusin C(C), gendarusin D (D), gendarusin E (E), dan tamoxifen (F) pada reseptor Estrogen Alfa ($ER\alpha$) dengan kode PDB 2JF9. Garis biru menunjukkan sebagai ikatan hidrogen, garis merah sebagai ikatan sterik, dan garis hijau sebagai interaksi elektrostatik.

Tabel 5.8 Hasil Interaksi Senyawa dengan Asam Amino

Nama Senyawa	Ikatan Hidrogen	Jarak (Å)	Ikatan Sterik	Jarak (Å)
 Gendarusin A	Asp 351	3,23	Val 355	3,03
	Glu 380	3,21 & 2,97	Leu 354	2,95 & 3,13
	Trp 383	2,67	Glu 380	3,18 & 3,14
			Trp 383	3,07
 Gendarusin B	Ala 340	2,71	Leu 525	(2,91)(2,87)(3,18)(3,15)
	Asp 351	2,52	Thr 347	3,01 & 2,45
	Leu 346	2,72	Leu 346	3,09
	Thr 347	2,52	Ala 350	2,87
	Leu 525	3,06	Met 343	3,16 & 3,14
 Gendarusin C	Glu 380	3,37	Leu 525	3,16
			Leu 354	2,86 & 3,18
			Trp 383	2,84 & 3,01
 Gendarusin D	Asp 351	3,22	Val 355	2,93
	Trp 383	2,99	Leu 354	3,18 & 2,77
	Glu 380	(2,70)(2,90)(3,26)(3,36)	Asp 351	3,02
			Met 522	3,19
 Gendarusin E	Leu 525	3,02	Trp 383	(3,16)(2,80)(3,16)
	Asp 351	2,60	Asp 351	3,07
	Glu 380	3,30	Trp 383	(3,09)(3,08)(2,85)(3,13)
 Tamoxifen	-	-	Phe 404	3,18

Tabel 5.9 Residu Asam Amino Senyawa *Gendarusin A-E* pada Reseptor *Estrogen**Alfa*

Senyawa	Asp 351	Glu 380	Trp 383	Ala 340	Leu 346	Thr 347	Leu 525
 Gendarusin A	+	+	+	-	-	-	-
 Gendarusin B	+	-	-	+	+	+	+
 Gendarusin C	-	+	-	-	-	-	-
 Gendarusin D	+	+	+	-	-	-	-
 Gendarusin E	+	+	-	-	-	-	+
 Tamoxifen	-	-	-	-	-	-	-

Pada gambar 5.5 dan tabel 5.8 merupakan hasil dari proses *docking* dengan reseptor estrogen alfa. Berdasarkan hasil tersebut didapatkan senyawa *gendarusin A-B* mempunyai residu aktif yang sama. Senyawa *gendarusin A* dan *D* mempunyai residu asam amino Asp 351, Glu 380, dan Trp 383, *gendarusin B* Ala 340, Asp 351, Leu 346, Thr 347, dan Leu 525, *gendarusin C* hanya mempunyai satu residu yaitu Glu 380, *gendarusin E* Leu 525, Asp 351, dan Glu 380. Sedangkan tamoxifen

sebagai pembanding tidak mempunyai residu yang aktif, namun mempunyai interaksi elektrostatik Asp 351 dengan jarak 3,76 Å. Hal yang perlu diperhatikan dalam interaksi ligan dengan asam amino yaitu ada tidaknya ikatan hidrogen antara ligan dengan asam amino His 524, karena asam amino tersebut dapat menentukan ligan bersifat antagonis atau agonis. Menurut Dermawan *et al.*, (2019) ligan dapat dikatakan bersifat agonis jika berikatan dengan asam amino His 524. Ligan bersifat antagonis jika tidak terbentuk ikatan hidrogen dengan asam amino His 524, jadi bisa diartikan senyawa *gendarusin A-E* mempunyai sifat antagonis seperti tamoxifen yang juga tidak membentuk ikatan hidrogen dengan asam amino His 524. Menurut Setiawati (2014) tamoxifen mempunyai ikatan hidrogen dengan asam amino Glu 383 dan Arg 394 yang dapat meningkatkan aktivitas antagonisnya. Menurut Saifuddin *et al.*, (2014) senyawa *gendarusin* aktif pada reseptor Hialuronidase dengan kode pdb 1FCV yang digunakan untuk memprediksi aktivitas terhadap enzim hialuronidase spermatozoa. Aktivitas *gendarusin B* terhadap enzim hialuronidase ditunjukkan dengan adanya ikatan hidrogen dengan asam amino Asp 111 dan Glu 113. Menurut Nugroho *et al.*, (2015) senyawa *gendarusin* aktif pada reseptor CYP1A1 dengan kode pdb 3RUK yang mempunyai abiterone sebagai obat kanker prostat.

Pada tabel 5.8 terdapat ikatan sterik, senyawa *gendarusin A* mempunyai ikatan sterik Val 355, Leu 354, Glu 380, dan Trp 383, senyawa *gendarusin B* Leu 525, Thr 347, Leu 346, Ala 350, dan Met 343, senyawa *gendarusin C* Leu 525, Leu 354, dan Trp 383, *gendarusin D* Val 355, Leu 354, Asp 351, Met 522, dan Trp 383, *gendarusin E* Asp 351 dan Trp 383, dan tamoxifen hanya mempunyai satu ikatan

sterik yaitu Phe 404. Menurut Muchtaridi *et al.*, (2018) adanya ikatan sterik mampu memberikan tempat untuk interaksi hidrogen dengan asam amino yang aktif.

5.2.6 Prediksi Toksisitas secara *In Silico*

Prediksi toksisitas dengan parameter LD₅₀, Kelas Toksisitas, Uji Mutagenik AMES, Hepatotoxicity, dan Skin Sensitization menggunakan aplikasi *Protox II Online Tool* dan *pkCSM Online Tool*.

Tabel 6.0 Hasil Prediksi toksisitas menggunakan *Protox II Online Tool* dan *pkCSM Online Tool*

Nama Senyawa	Toksisitas				
	LD50 (mg/kg)	Kelas Toksisitas	Uji Mutagenik AMES	Toksik Terhadap Hati	Sensitivitas Kulit
Gendarusin A	566	4	Ya	Tidak	Tidak
Gendarusin B	1213	4	Tidak	Tidak	Tidak
Gendarusin C	566	4	Ya	Tidak	Tidak
Gendarusin D	566	4	Ya	Tidak	Tidak
Gendarusin E	566	4	Ya	Tidak	Tidak
Tamoxifen	1190	4	Ya	Tidak	Tidak

Tahap selanjutnya yaitu prediksi toksisitas senyawa gendarusin A-E berdasarkan LD₅₀, kelas toksisitas, uji mutagenik AMES, hepatotoxicity, dan skin sensitization. Menurut El Din *et al.*, (2016) tingkat kelas toksisitas berdasarkan *Globally Harmonized System (GHS)* yaitu, kelas I: fatal jika tertelan dengan LD₅₀ (≤ 5 mg / kg), kelas II: fatal jika tertelan ($5 < LD_{50} \leq 50$ mg / kg), kelas III: toksik jika tertelan ($50 < LD_{50} \leq 300$ mg / kg), kelas IV: berbahaya jika tertelan ($300 < LD_{50} \leq$

2000 mg / kg), kelas V: kemungkinan bisa berbahaya jika tertelan ($2000 < LD_{50} \leq 5000$ mg / kg), kelas VI: tidak beracun ($LD_{50} > 5000$ mg / kg).

Dari tabel 5.9 hasil prediksi toksisitas menggunakan *Protox II Online Tool* dan *pkCSM Online Tool* didapatkan senyawa gendarusin A mempunyai nilai LD_{50} 566 mg/kg, senyawa ini menimbulkan toksisitas pada bakteri (AMES Toxicity), namun tidak menimbulkan efek toksik pada hepar dan sensitif pada kulit. Gendarusin B mempunyai LD_{50} 1213 mg/kg, senyawa ini tidak menimbulkan toksisitas pada bakteri, tidak menimbulkan efek toksik pada hepar, dan tidak sensitif pada kulit. Gendarusin C mempunyai LD_{50} 566 mg/kg, senyawa ini menimbulkan toksisitas pada bakteri, namun tidak toksik pada hepar dan tidak sensitif pada kulit. Gendarusin D dan gendarusin E mempunyai LD_{50} 566 mg/kg, kedua senyawa ini menimbulkan toksisitas pada bakteri, tetapi tidak toksik pada hepar, dan tidak sensitif pada kulit. Tamoxifen mempunyai LD_{50} mempunyai 1990 mg/kg, menimbulkan toksisitas pada bakteri, namun tidak toksik pada hepar dan tidak sensitif pada kulit. Senyawa gendarusin A-E dan tamoxifen termasuk dalam kelas toksisitas 4 dengan rentan nilai LD_{50} 566-1213. Senyawa gendarusin B mempunyai nilai LD_{50} paling tinggi dibandingkan gendarusin lainnya. Hal ini menandakan senyawa gendarusin B mempunyai toksisitas paling rendah dibandingkan lainnya. Menurut Supandi et al., (2018) tingkat toksisitas kelas 4 menunjukkan toksisitas yang relatif rendah. Semakin tinggi nilai LD_{50} maka semakin rendah toksisitasnya.

5.3 Metode In Silico dalam Prepektif Islam

Makna dari surah Al- Ankabut ayat 43 menurut Tafsir Quraish Shihab yakni “pelajaran-pelajaran dan perumpamaan-perumpamaan ini Allah sebutkan kepada manusia untuk mereka jadikan sebagai pelajaran.Tidak ada yang mengambil pelajaran darinya kecuali orang-orang berakal yang merenungi”. Ayat ini merupakan seruan agar manusia berfikir dan memahami hal baru menggunakan ilmu pengetahuan dan teknologi (Shihab, 2002 dalam Tafsir Al-Misbah).

Menurut Shihab (2012) dalam tafsir Al-Lubab, Perumpamaan (matsal) dalam Al-Quran mengandung makna-makna yang dalam. Ia bukan bertujuan menghiasi kalimat, bukan juga terbatas pada pengertian kata-katanya.melainkan sesuai kemampuan ilmiahnya dapat menimba dari perumpamaan itu pemahaman yang boleh jadi berbeda, bahkan lebih dalam daripada orang lain. Dalam penelitian ini peneliti menggunakan ilmu dan teknologi secara komputasi yakni studi *in silico* yang dapat digunakan sebagai salah satu cara untuk memprediksi potensi tumbuhan *Justicia gendarussa* sebagai antikanker payudara.

Metode In Silico merupakan suatu cara pengembangan obat baru yang digunakan sebagai studi awal dan akan dilanjutkan dengan metode lain pada skala laboratorium (Rohmah, 2017). Metode ini mempunyai peranan penting dalam bidang kimia medisinal, yaitu dalam proses merancang, menemukan, dan optimasi senyawa bioaktif saat pengembangan obat baru. In silico adalah cara identifikasi obat baru yang cepat, tidak membutuhkan biaya mahal, dan mengurangi penggunaan hewan coba. Uji ini dilakukan dengan cara moeculer docking yang

dapat memprediksi adanya aktivitas dari suatu senyawadengan sel target (reseptor) (Hardjono, 2016).

Pada uji *in silico* ini peneliti menggunakan tumbuhan gandarusa dengan kandungan kimia senyawa golongan flavonoid, tanin, dan alkaloid. Tumbuhan gandarusa mempunyai aktivitas sebagai antibakteri, anti-HIV, dan antikanker. Sehingga perlu dilakukan uji *in silico* menggunakan tumbuhan gandarusa untuk mengetahui aktivitas antikanker payudara pada reseptor Estrogen Alfa (Widiyanti, *et al.*, 2016).



BAB VI

PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil yang didapatkan dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Senyawa gendarusin A-E tidak memenuhi hukum lima Lipinski dan dapat diartikan kelima senyawa ini sulit diabsorpsi dan mempunyai permeabilitas yang rendah.
2. Senyawa gendarusin A-E mempunyai afinitas terhadap kanker payudara yang ditunjukkan dengan MolDock Score dan Rerank Score. Semakin kecil hasil MolDock Score dan Rerank Score, maka semakin tinggi afinitasnya.
3. Senyawa gendarusin A-E mempunyai toksisitas yang relatif rendah karena tergolong kelas toksisitas 4.

6.2 Saran

Berdasarkan hasil yang didapatkan dari penelitian ini terdapat beberapa saran sebagai berikut:

1. Perlu melakukan studi penelitian secara *in vitro* dan *in vivo* dari senyawa gendarusin A-E untuk mengetahui adanya potensi antikanker payudara.
2. Perlu melakukan studi penelitian secara *in silico* dari senyawa gendarusin A-E terhadap reseptor estrogen beta dan Her 2.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad. H., Supriatno., Marhamah. Rasmidar. 2014. Aktivitas Antikanker Dan Antiproliferasi Fraksi Etanol Sarang Semut (*Myrmecodya Pendans*) Pada Sel Kanker Lidah Manusia SP-C1. *Dentofasial*. 13(1): 1-6.
- Akbar, H. Rizki. 2010. *Isolasi dan Identifikasi Golongan Flavonoid Daun Dandang Gendis (Clinacanthus nutans) Berpotensi Sebagai Antioksidan*. Skripsi. Departemen Kimia, Fakultas MIPA. Institut Pertanian Bogor.
- Akmal, M., Zely, I. 2010. *Ensiklopedi Kesehatan Untuk Umum*. Jogjakarta: Ar-ruzz Media.
- Al- Mahal, Jalaluddin, I, dan As-Suyuti. 2007. *Tafsir Jalalain*. Ter. Bahrun Abu Bakar. Bandung: Sinar Baru Algensindo.
- Al-Qurthubi and Imam, S. 2009. *Tafsir Al-Qurthubi*. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Asako, O., Takaharab, S., Sumiyoshia, K., Yamamotoa, H., Kawaic, J., and Shibaa, E. 2013. Relationship Between Intrinsic Subtypes And Tumor Responses To Neoadjuvant Chemotherapy In Patients With Locally Advanced Breast Cancer. *Breast Disease* 34 (2012/2013) 9-17.
- Broccatelli, F., Carosati, E., Neri, A., Frosini, M., Goracci, L., Oprea, I.T., Cruciani, G. 2011. A Novel Approach for Predicting P-Glycoprotein (ABCB1) Inhibition Using Molecular Interaction Fields. *Journal of Medical Chemistry*. 54. 1740-1751.
- Bruce. A., Chabner., Thomas. G., Roberts. Jr. 2005. Chemotherapy and The War On Cancer. *Nature Review*. Volume 5.
- Campbell, N. A. & J. B. Reece. 2008. *Biologi, Edisi Kedelapan Jilid 3*. Jakarta: Erlangga.
- CLCbio. 2013. *Moelgro Virtual Docker User Manual, MVD 2013.6.0 for Windows, Linux, and Mac OS X*. Molegro A CLC bio company.
- Dalimartha, S. 2001. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia, Jilid 1*. Jakarta: Trubus Ariwidya.
- Depkes RI. 2013. *Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2013* . Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.

- Dermawan, D., Sumirtanurdin, R., Dewantisari, D. 2019. Molecular Dynamics Simulation of Estrogen Receptor Alpha Against Andrografolid as Anti Breast Cancer. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. 6(2).
- Djalil, A.D., Kartasasmita, R.E., Surantaatmaja, S.I., Tjahjono, D.H. 2012. Toxicity Prediction of Photosensitizer Bearing Carboxylic Acid Group 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*. Yogyakarta: UGM.
- Fung MF, Reid A, Faught W, Le T, Chenier C, Verma S, Brydon E & Fung KF. 2003. Prospective Longitudinal Study Of Ultrasound Screening For Endometrial Abnormalities In Women With Breast Cancer Receiving Tamoxifen. *Gynecologic Oncology*. 91.154–159.
- Hakim, A., Widyabni, S., Alfianto, U. 2018. Hubungan Antara Obesitas Dengan Reseptor Hormonal (Reseptor Estrogen Dan Progesteron) Dan Ekspresi Her-2/Neu Pada Pasien Kanker Payudara Di Rs X Surakarta. *Biomedika*. 10 (1).
- Hardjono, Suko. 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*. 14(2).
- Hardjono, S., Siswodihardjo, S., Pramono, P., Darmanto, W. 2016. Quantitative Structure- Cytotoxic Activity Relationship 1- (Benzoyloxy)urea an Its Derivative. *Current Drug Discovery Technologies*. 13(2), 101-108.
- Harti, A.S. 2014. *Biokimia Kesehatan*. Yogyakarta: Nuha Medika.
- Haryono SJ, Sukasah C, Swantari N. 2011. Payudara. Dalam: Sjamsuhidayat R, De jong WD. *Buku Ajar Ilmu Bedah Edisi ke-3*. Jakarta: EGC.
- Heffner, Linda J & Schrust DJ. 2010. *At a glance sistem reproduksi. Edisi Kedua*. Jakarta: Erlangga Medical Series.
- Hui, C., Qi, X., Qianyong, Z., Xiaoli, P., Jundong, Z., Mantian, M. 2013. Flavonoids, Flavonoid Subclasses and Breast Cancer Risk: A Meta-Analysis of Epidemiologic Studies. *Plos One*. 8(1).
- Ihwan, Asabri, M.Y., Khumaidi, A. 2018. Uji Toksisitas Akut Dan Letal Dose (LD50) Ekstrak Etanol Daun Pepolo (*Bischofia javanica* Blume) Pada Mencit Putih (*Mus musculus*). *Journal of Science and Technology*. 7(1): 110-116.

- Ito, C., M. Itoigawa, T. Takakura, N. Ruang Rungsi, F. Enjo, H. Tokuda, H. Nishino and H. Furukawa. 2003. Chemical Constituents of *Garcinia fusca*: Structure Elucidation of Eight New Xanthenes and Their Cancer Chemopreventive Activity. *The Journal of Natural Products*. 66: 200-205.
- Jemal. 2011. *Inflammation and Cancer*. Jakarta: Subash Chandra Gupta.
- Johnson, M. H., dan Everitt, B. J., 1988. *Essential Reproduction. Third Edition*. London : Blackwell Science Publisher.
- Juneja, M., Jose. R., Kekre. A.N., Viswanathan. F., Seshadri. L. 2002. Tamoxifen-Induced Endometrial Changes In Postmenopausal Women With Breast Carcinoma. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*. 76. 279_284.
- Katrin, Elya. B, Amin. J, Permawati. M. 2009. Aktivitas Ekstrak Air Daun Gandarusa (*Justicia gendarusa* Burm.f) Terhadap Penurunan Kadar Asam Urat Darah Tikus. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*.7(1):24-8.
- Kavitha. K, Sridevi. K.S, Sujatha. K, Umamaheswari. S. 2014. *Phytochemical and Pharmacological Profile of Justicia gendarussa* Burm f.-review. 8(7), 990 – 997.
- Kesuma, D., Siswandono, Purwanto, B.T., Hardjono, 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.
- Kiren, Y., Deguchi, J., Hirasawa, Y., Morita, H., Prajogo, B. 2014. *Justidrusamides A-D, New 2-aminobenzyl Alcohol Derivatives From Justicia gendarussa*. *J Nat Med*. 68: 754-758.
- Kowalak. 2011. *Buku Ajar Patofisiologi*. Jakarta: EGC
- Kumar, V., Cotran, R.S., dan Robbins S.L. 2007. *Buku Ajar Patologi. Edisi 7*. Jakarta: EGC. 367-378.
- Lander, E.S., Linton, L.M., Birren, B., Nusbaum, C., Zody, M.C., Baldwin, J. 2001. Initial Sequencing And Analysis Of The Human Genome. *Nature J*. 409(6822):860–921.
- Levin, E.R. 2005. Integration of The Extranuclear and Nuclear Actions of Estrogen. *Mol Endocrinol*. 19(8):1951–1959.
- Liau, S.L., Connell, P.P., Weichselbaum, R.R. 2013. New Paradigms and Future Challenges in Radiation Oncology: An Update of Biological Targets and Technology. *Science Translational Medicine*. 5(173).

- Lipinski, C.A., Lombardo, F., Dominy, B.W. and Feeney, F.J. 1997. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 23.3-25.
- Maharani, S. 2009. *Kanker: Mengenal 13 Jenis Kanker dan Pengobatannya*. Yogyakarta: Katahati.
- Mansjoer, A. 2002. *Askariasis. Dalam : Kapita Selekta Kedokteran. Jilid 1, Edisi 3*. Jakarta: Media Aesculapius FKUI. Halaman : 416 – 418.
- Megawati, S., Pratiwi, D., Khaerunnisa, L. 2016. Studi In Silico Senyawa Alkaloid Dari Bunga Tapak Dara (*Catharanthus roseus* (L) G.Don) Pada Reseptor Estrogen Beta Sebagai Antikanker Payudara. *Farmagazine*. 3(1).
- Mrunthunjaya. K dan Hukkeri. V.I. 2007. Antioxidant and Free Radical Scavenging Potential of *Justicia gendarussa* Burm. Leaves *In Vitro*. *Nat Prod Sci*. 13: 199–206.
- Muchtaridi., Yanuar, A., Megantara, S., Purnomo, H., 2018. *Dasar-Dasar Dalam Perancangan Obat Edisi Pertama*. Jakarta: Prenadamedia Group.
- Ningsih, I, Y., Purwanti, D, I., Wongso, S., Prajogo, B., Indrayanti, G. 2015. Metabolite Profiling of *Justicia gendarussa* Burm. f. Leaves Using UPLC-UHR-QTOF-MS. *Sci Pharm*; 83: 489-500.
- Nugroho, T., Siswandono., and Prajogo, B.E.W. 2015 Studi *In Silico* Gendarusin A, B, C, D dan E Untuk Prediksi Aktivitas Terhadap Enzim Cyp17a1 Sebagai Afrodisiaka. *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian*. 2(1).
- Paterni, I., Granchi, C., Katzenellenbogen, J.A., Minutulo, F. 2014. Estrogen Receptoes Alpha (ER α) and Beta (ER β): Subtype-Selective Ligands and Clinical Potential. *Elsivier Articiel in Press*. 17.
- Paval. J., Kaitheri. S.K., Potu. B.K., Govindan. S., Kumar. R.S., Narayanan. S.N., Moorkoth. S. 2009. Anti-Arthritic Potential Of The Plant *Justicia gendarussa* Burm F. *Clinics*. 64: 357–360.
- Payne SJL, Bowen RL, Jones JL, Wells CA. 2008. Predictive Markers In Breast Cancer–The Present. *Histopathology*. 52(1): 82–90.
- Pires, D.E.V., Blundell, T.L., Ascher, D.B. 2015. pkCSM: Predicting Small-Molecule Phramacokinetic and Toxicity Properties Using Graph- Based Signatures. *Journal of Medical Chemistry*. Vol 58. Hal. 4066-4072.

- Prajogo B, David G, Ferreira QE, Wolfender J-L, Zaini NC, Aucky H, Hostettmann K, 2009. Isolation of Male Antifertility Compound in n-butanol Fraction of *Justicia gendarussa* Burm. F. Leaves. *Medica Indonesiana*. 45(1), hal. 28-31.
- Pratam, R.M. 2016. Studi *Docking* Molekular Senyawa Turunan Kuinolin Terhadap Reseptor Estrogen- α . *Jurnal Surya Medika*. 2(1).
- Purwoastuti, E. 2008. *Kanker Payudara Pencegah Deteksi Dini*. Yogyakarta: Kanisius.
- Puspaningtyas, A, R. 2012. Molekular Docking Dengan Metode Molegro Virtual Docker Turunan Kalkon Sebagai Antimikroba. *Stomatognatic (J.K.G Unej)*. 9 (1).
- Prajogo. B., Widiyanti. P., and Riza. H. 2014. Effect of Ethanolic Extract of *Justicia gendarussa* Burm f. Against Activity of Reverse Transcriptase HIV Enzyme In Vitro. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, 8 (6): 384–388.
- Price, A. Sylvia, Lorraine Mc. Carty Wilson. 2006. *Patofisiologi : Konsep Klinis Proses-proses Penyakit, Edisi 6, (terjemahan)*. Jakarta: Peter Anugrah, EGC.
- Ren, W., Qiao, Z., Wang, H., Zhu, L., Zhang, L. 2003. Flavonoids: Promising Anticancer Agents. *Medicinal Research Reviews*. 23 (4), 519-534.
- Rohmah, Kurnia. 2017. Studi *In Silico* Kompleks Ligand-Reseptor Eugenol Daun Basil (*Ocimum Basilicum* L.) Dengan Reseptor Her2 Pada *Non-Small Cell Lung Cancer (Nslc)* Dengan Kontrol Gefitinib. *Medicamento*. 3(2).
- Rosita, S.M.D., Rostiana, O., Pribadi, E.R., Hernani. 2007. Penggalan IPTEK Etnomedisin Di Gunung Gede Pangrango. *Buletin Littro*. 18(1):13-28.
- Saha. M.R., Debnath. P.C., Rahman. MdA., Islam. MdA. 2012. Evaluation Of *In Vitro* Anthelmintic Activities Of Leaf And Stem Extracts Of *Justicia gendarussa*. *Bangl J Pharmacol*. Volume. 7: 50–53.
- Saifuddin, A., Siswandono., and Prajogo, B.E.W. 2014. Studi In Silico Gendarusin A,B,C,D, Dan E Untuk Prediksi Absorpsi Dan Aktivitas Terhadap Hialuronidase (Ec 3.2.1.35). *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 1(2).
- Setiawati, A., Ruswanto, F.O.D., Yuliani, S.H., Istyastono, E.P. 2014. Anticancer Activity Of Mangosteen Pericarp Dry Extract Against Mcf-7 Breast Cancer Cell Line Through Estrogen Receptor - α . *Indonesian J.Pharm*. 25(119-124).

- Shihab, M.Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah (Pesan, Kesan, dan Keserasian AL-Qur'an) Vol 1*. Jakarta: Lentera Hati.
- Shihab, M. Quraish. 2012. *Al-Lubab: Makna, Tujuan, dan Pembelajaran dari Surah-srah Al-Qur'an*. Tangerang: Lentera Hati.
- Sianipar, A.E., Louisa, M., Wanandi, I.S. 2018. Kurkumin Meningkatkan Sensitivitas Sel Kanker Payudara terhadap Tamoksifen Melalui Penghambatan Ekspresi P-glikoprotein dan *Breast Cancer Resistance Protein*. *Jurnal Farmasi Galenika*. 4(1).
- Siswandono dan Soekardjo, B., 2000. *Kimia Medisinal :Edisi 2*, 228-232, 234, 239. Surabaya: Airlangga University Press.
- Siswandono. 2016. *Kimia Medisinal 1: Edisi kedua*. Surabaya: Airlangga Press.
- Siswandono., Widiandani, T., Hardjono, S. 2017. Docking and Cytotoxicity Test on Human Breast Cancer Cell Line (T47D) of N- (Allylcalbamothioyl)-3-chlorobenzamide an D-(Allylcarmothioyl)-3,-4-dichlorobenzamide. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 8(2).
- Sivasakthi. A dan Vijayalakshmi. 2014. M. An *In Vitro* Study Of Antibactericidal Activity Of Some Secondary Metabolites Rich Fraction From The Leaves Of *Justicia gendarussa*. *Int J Ethnomed Pharmacol Res*. Volume 2: 44–50.
- Sharma. K.K., Saikia. R., Kotoky. J., Kalita. J.C., Devi. R. 2011. Antifungal Activity Of *Solanum Melongena* L, *Lawsonia Inermis* L. And *Justicia Gendarussa* B. Against Dermatophytes. *Int J PharmTech Res*. Volume 3: 1635–1640.
- Shikha. P., Latha. P.G., Suja. S.R., Anuja. G.I., Shyamal. S., Shine. V.J., Sini. S., Kumar. N.M., Rajasekaran. S. 2010. Anti-Inflammatory And Antinociceptive Activity Of *Justicia Gendarussa* Burm. F. Leaves. *Indian J Nat Prod Resour*. Volume 1: 456–461.
- Sjamsuhidajat, R & Wim, de Jong (ed). 2004. *Buku Ajar Ilmu Bedah*. Jakarta: EGC.
- Soebachman, Agustina. 2011. *Awas, 7 Kanker Paling Mematikan*. Yogyakarta : Syura Media Utama.
- Steenis, V.C.G.G .1978. *Flora Untuk Sekolah di Indonesia*. Jakarta: Pardnya Paramitha. Pp.393-415.

- Sudaryono, A. 2011. Teratogenitas Senyawa Flavonoid Dalam Ekstrak Metanol Daun Benalu (*Dendrophthoe pentandra (L) Miq.*) pada *Mus musculus*. *Jurnal Exacta*. 9(1): 1-8.
- Sunaryati, S.S. 2011. *14 Penyakit Paling Sering Menyerang dan Mematikan*. Jogjakarta: Flash Books.
- Supandi, Yeni, Merdekawati, F. 2018. In Silico Study of Pyrazolylaminoquinolone Toxicity by Lazar, Protox, and Admet Predictor. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 8(9): 119-129.
- Syahputra, G. 2015. Peran Bioinformatika Dalam Desain Kandidat Molekul Obat. *Biotrends*. 1(1).
- Thomse, R dan Christensen, MH. 20016. MolDock: A New Technique for High-Accuracy Molecular Docking. *J Med Chem*. 49(11): 3315-3321.
- Wagh, P.M., and Patel, SJ. 2010. Biopharmaceutical Classification System: Scientific Basis For Biowaiver Extensions. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2(1).
- Widiyanti, P., Prajogo, B., Hikmawanti Erni, N,P. 2016. Cytotoxicity of *Justicia gendarussa* Burm F. Leaf Extracts On Molt-4 Cell. *Indonesian Journal of Tropical and Infectious Disease*. 6(1).
- Wilfrido, D., Mojica, M.D., Paul, M., Don, S., PhD3. 2016. Critical Ligand Binding Sequences of the ESR1 Gene: What Role in the Treatment of ER(+) Breast Cancers?. *North American Journal of Medicine and Science*. 9(3).
- Yustiana, O. 2013. *Kanker Payudara dan Sadari*. Yogyakarta: PT. Nuha Medika.



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 : Nur Ika Octavia
NIM : 15670022
Judul : Pengujian *In Silico* Senyawa *Gendarusin A-E* Terhadap Reseptor *Estrogen Alfa (ER α)* Pada Kanker Payudara
Tanggal Sidang Skripsi : 26 Desember 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 Z.A, M.Farm, Apt.	6 Januari 2020	
2.	Ach. Nasichuddin, M.A	6 Januari 2020	
3.	Dr. Roihatul Muti'ah, M. Kes., Apt.	7 Januari 2020	
4.	Yen Yen Ari Indrawijaya, M.Farm.Klin., Apt.	6 Januari 2020	

Catatan :

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



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