

**STUDI IN SILICO SENYAWA *Heliannuol A, B, C, D, dan E* PADA
TANAMAN BUNGA MATAHARI (*Helianthus annuus L.*) TERHADAP
RESEPTOR ESTROGEN β (ER β) (2I0G)**

SKRIPSI

Oleh:
HIBBATULLAH
NIM. 16670036



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2020**

**STUDI IN SILICO SENYAWA *Heliannuol A, B, C, D, dan E* PADA
TANAMAN BUNGA MATAHARI (*Helianthus annuus L.*) TERHADAP
RESEPTOR ESTROGEN β (ER β) (2I0G)**

SKRIPSI

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

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2020**

**STUDI IN SILICO SENYAWA *Heliannuol A, B, C, D, dan E* PADA
TANAMAN BUNGA MATAHARI (*Helianthus annuus L.*) TERHADAP
RESEPTOR ESTROGEN β (ER β) (2I0G)**

SKRIPSI

Oleh:
HIBBATULLAH
NIM. 16670036

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal: 19 Mei 2020

Pembimbing I



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

Pembimbing II



apt. Alif Firman F., S.Farm., M.Biomed.
NIP. 19920607 201903 1 017

Mengetahui,

Ketua Program studi Farmasi



apt. Abdul Hakim, M.P.I. M.Farm.
NIP. 19761214 200912 1 002

**STUDI IN SILICO SENYAWA *Heliannuol A, B, C, D, dan E* PADA
TANAMAN BUNGA MATAHARI (*Helianthus annuus L.*) TERHADAP
RESEPTOR ESTROGEN β (ER β) (2I0G)**

SKRIPSI

Oleh:
HIBBATULLAH
NIM. 16670036

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Pengaji Skripsi Dan Dinyatakan
Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk Mendapatkan Gelar Sarjana
Farmasi (S.Farm)
Tanggal: 19 Mei 2020

Ketua Pengaji

: apt. Yen Yen Ari I., M.Farm.Klin.
NIP. 19930130 20180201 2 203

Anggota Pengaji

- : 1. Dr. apt. Roihatul Muti'ah, M.Kes.
NIP. 19800203 200912 2 003
2. apt. Alif Firman F., S.Farm. M.Biomed.
NIP. 19920607 201903 1 017
3. apt. Abdul Hakim, M.P.I., M.Farm.
NIP. 19761214 200912 1 002

(.....)
Reza
(.....)
J...
(.....)
J...
(.....)
J...

Mengesahkan,
Ketua Program studi Farmasi



apt. Abdul Hakim, M.P.I., M.Farm.
NIP. 19761214 200912 1 002

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Hibbatullah
NIM : 16670036
Program studi : Farmasi
Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Judul Penelitian : Studi *In Silico* Senyawa *Heliammuol* A, B, C, D, dan E Pada Tanaman Bunga Matahari (*Helianthus annuus* L.) Terhadap Reseptor Estrogen β (ER β) (2I0G)

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-banar 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, Mei 2020

Yang membuat pernyataan,



Hibbatullah
NIM. 16670036

MOTTO

DON'T BE SAD, ALLAH ALWAYS WITH US
"LA TAHZAN INNALLAHA MA'ANA"

Allah tidak akan menghianati hambanya yang mau berusaha dan berdoa



LEMBAR PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirabbil aalamiin, puji syukur senantiasa dipanjatkan kehadirat Allah SWT beserta shalawat dan salam selalu tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW. Dengan rasa syukur, penulis mempersembahkan karya tulis ini.

Kepada kedua orang tua, Bapak Agus Pembudi dan Ibu Lailatul Husna yang selalu mendoakan dan mendukung sehingga penulis mampu menyelesaikan studi ini. Serta kepada adik saya Muhammad Wafidzin, keluarga saya lainnya yang tidak tersebutkan, beserta teman-teman Farmasyifa yang selalu mendoakan, membantu dan memberi semangat kepada penulis sehingga mampu menyelesaikan studi maupun tugas akhir.

Ibu Dr. apt. Roihatul Muti'ah, M.Kes., Bapak apt. Alif Firman Firdausy, S.Farm. M.Biomed. dan Ibu apt. Yen Yen Ari I., M.Farm.Klin. yang telah membimbing dan membantu sehingga dapat menyelesaikan tugas akhir ini. Kepada Bapak apt. Abdul Hakim, M.P.I. M.Farm. yang telah membimbing dari segi keagamaan. Terimakasih kepada bapak ibu dosen farmasi yang telah membantu saya menyelesaikan studi.

Kepada orang yang berada di sekitar penulis yang telah mendukung dan memberi semangat. Tidak cukup ucapan terima kasih kepada semua orang yang telah mendoakan dan memberi dukungan, semoga semua pihak yang telah membantu selalu diberikan kesehatan dan keberkahan oleh Allah SWT.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakaaatuh

Segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan nikmat, rahmat dan hidayahNya, sehingga naskah skripsi yang berjudul “Studi *In Silico* Senyawa *Heliannuol A, B, C, D, dan E* Pada Tanaman Bunga Matahari (*Helianthus annuus L.*) Terhadap Reseptor Estrogen β (ER β) (2I0G)” dapat terselesaikan dengan baik. Sholawat serta salam tetap tercurahkan kepada junjungan kita, Nabi Muhammad SAW. Penulis mengucapkan terima kasih dengan segenap kesungguhan dan kerendahan hati kepada:

1. Bapak Prof. Dr. H. Abdul Haris, M. Ag. selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Prof. Dr. dr. Yuyun Yueniawati Prabowowati Wadjib, M.Kes., Sp.Rad. selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Bapak apt. Abdul Hakim, M.P.I., M.Kes. selaku ketua program studi Farmasi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang serta selaku dosen pembimbing agama yang telah meluangkan waktu untuk membimbing penulis sehingga naskah skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
4. Ibu Dr. apt. Roihatul Muti'ah, M.Kes. dan Bapak apt. Alif Firman F., M. Biomed. selaku dosen pembimbing yang telah memberikan arahan, bimbingan serta motivasi kepada penulis sehingga naskah skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
5. Ibu apt. Yen Yen Ari I., M. Farm. selaku penguji utama yang bersedia meluangkan waktu untuk memberikan arahan atas kesalahan-kesalahan penulis selama menyusun naskah skripsi.
6. Para Dosen Pengajar di Jurusan Farmasi yang telah membagi ilmunya kepada penulis selama berada di Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
7. Keluargaku Bapak Agus Pembudi dan Ibu Lailatul Husna atas doa dan dukungan yang diberikan selama ini kepada penulis.
8. Teman-teman seperjuangan *Studi In Silico* dan teman-teman proyek 2016 yang berjuang dan berkorban bersama serta turut memberikan dukungan dan motivasi selama penggerjaan naskah skripsi.
9. Semua rekan dan pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu atas segala bantuannya kepada penulis.

Penulis menyadari adanya kekurangan dan keterbatasan dalam naskah skripsi ini. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis mengharapkan kritik dan saran dari semua pihak demi penyempurnaan naskah skripsi ini. Semoga naskah skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Wassalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakaaatuh

Malang, Mei 2020
Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL

HALAMAN PENGAJUAN

HALAMAN PERSETUJUAN

HALAMAN PENGESAHAN

HALAMAN PERNYATAAN

MOTTO

HALAMAN PERSEMBAHAN

KATA PENGANTAR i

DAFTAR ISI ii

DAFTAR GAMBAR vii

DAFTAR TABEL ix

DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN x

ABSTRAK xii

ABSTRACT xiii

مستخلص البحث xiv

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang 1

1.2 Rumusan Masalah 7

1.3 Tujuan 7

1.4 Manfaat 8

1.5 Batasan Masalah 8

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Metode <i>In Silico</i> dalam Perspektif Islam.....	9
2.2 Tinjauan Bunga Matahari (<i>Helianthus annuus</i> L.).....	11
2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi.....	11
2.2.2 Kandungan Senyawa.....	12
2.3 Tinjauan Senyawa Seskuiterpen.....	12
2.4 Tinjauan Kanker.....	14
2.4.1 Kanker Otak.....	17
2.5 Tinjauan Reseptor Estrogen.....	19
2.5.1 <i>Estrogen Receptor β (ERβ)</i>	21
2.6 Tinjauan <i>In Silico</i> dan Aplikasi Penunjang.....	23
2.6.1 Definisi <i>In Silico</i>	23
2.6.2 Aplikasi Penunjang.....	24
2.6.2.1 <i>Molegro Virtual Docker</i>	24
2.6.2.2 <i>Avogadro</i>	25
2.6.2.3 <i>pkCSM Online Tool</i>	26
2.6.2.4 <i>Protox II Online Tool</i>	27
2.7 Permodelan Molekul.....	29
2.8 Interaksi Obat dengan Reseptor.....	30
2.8.1 Ikatan Kovalen.....	31
2.8.2 Ikatan Ionik.....	32
2.8.3 Interaksi Ion Dipol atau Dipol-Dipol.....	32
2.8.4 Ikatan Hidrogen.....	32

2.8.5 Ikatan Van Der Waal's.....	33
2.8.6 Ikatan Hidrofobik.....	34
2.8.7 Transfer Muatan.....	34
2.9 Tinjauan Hukum lima Lipinski.....	35
2.10 Tinjauan Toksisitas.....	36
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL	
3.1 Bagan Kerangka Konseptual.....	38
3.2 Uraian Kerangka Konseptual.....	39
3.3 Hipotesis.....	40
BAB IV METODE PENELITIAN	
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian.....	42
4.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	42
4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional.....	42
4.3.1 Variabel Bebas.....	42
4.3.2 Variabel Terikat.....	43
4.3.3 Variabel Kontrol.....	43
4.3.4 Deinisi Operasional.....	43
4.4 Alat dan Bahan Penelitian.....	45
4.4.1 Alat.....	45
4.4.2 Bahan.....	45
4.4.2.1 Struktur Ligan <i>Heliannuol A, B, C, D dan E</i>	45
4.4.2.2 Struktur Tiga Dimensi Reseptor Estrogen β (ER β).....	46
4.5 Skema Kerja Penelitian dan Prosedur Penelitian.....	47

4.5.1 Skema Kerja Penelitian.....	47
4.5.2 Prosedur Penelitian.....	48
4.5.2.1 Preparasi Ligan.....	48
4.5.2.2 Preparasi Protein Reseptor.....	48
4.5.2.3 Penambatan <i>Molecular Docking</i>	48
4.5.2.4 Prediksi Sifat Fisikokimia dan Toksisitas Senyawa.....	50
4.6 Analisa Data.....	50
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	
5.1 Persiapan Senyawa Uji.....	53
5.1.1 Pembuatan Struktur 2 Dimensi, 3 Dimensi, dan Penentuan Energi Minimal.....	53
5.1.2 Pembuatan Kode SMILES.....	56
5.2 Prediksi Sifat Fisikokimia dan ADME.....	58
5.3 Prediksi Toksisitas Secara <i>In Silico</i>	69
5.4 Prosedur Simulasi <i>Docking</i>	71
5.4.1 Hasil Preparasi Protein 2I0G.....	71
5.4.2 Hasil Penentuan Lubang (<i>Cavity</i>).....	72
5.4.3 Pengaturan <i>Molegro Virtual Docking</i>	74
5.4.4 Hasil Validasi Reseptor 2I0G.....	74
5.4.5 Hasil <i>Docking</i> Senyawa <i>Heliannuol A, B, C, D, dan E</i>	75
5.4.6 Hasil Interaksi Residu Asam Amino 2I0G (A).....	78
5.5 Integrasi Penelitian dengan Kajian Al-Quran.....	83

BAB VI PENUTUP

6.1 Kesimpulan.....	85
6.2 Saran.....	85
DAFTAR PUSTAKA.....	86
LAMPIRAN.....	97



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 <i>Helianthus annuus</i> L.....	11
Gambar 2.2 Struktur Kimia (1) Heliannuol A, (2) Heliannuol B, (3) Heliannuol C, (4) Heliannuol D, dan (5) Heliannuol E.....	13
Gambar 2.3 Enam Tanda Utama Kanker (<i>The Hallmarks of Cancer</i>).....	17
Gambar 2.4 Klasifikasi Glioma.....	19
Gambar 2.5 Letak Reseptor Estrogen Pada Tubuh.....	20
Gambar 2.6 Mekanisme Persinyalan ER β dalam Sel Glioma.....	21
Gambar 2.7 (A) Struktur 2D Erteberel dan (B) Struktur 3D Erteberel.....	23
Gambar 2.8 Tampilan <i>Molegro Virtual Docker 6.0</i>	25
Gambar 2.9 Avogadro.....	26
Gambar 2.10 Alur Aplikasi <i>pkCSM tool</i>	27
Gambar 2.11 Hasil Analisa <i>Protox II Online Tool</i>	28
Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konsep.....	38
Gambar 4.1 Struktur Tiga Dimensi (A) <i>Heliannuols A</i> , (B) <i>Heliannuols B</i> , (C) <i>Heliannuols C</i> , (D) <i>Heliannuols D</i> , (E) <i>Heliannuols E</i>	45
Gambar 4.2 Struktur 3 Dimensi Reseptor Estrogen β (2I0G).....	46
Gambar 4.3 Skema Kerja Penelitian.....	47
Gambar 5.1 Struktur 2 Dimensi (1) <i>Heliannuol A</i> ; (2) <i>Heliannuol B</i> ; (3) <i>Heliannuol C</i> ; (4) <i>Heliannuol D</i> ; (5) <i>Heliannuol E</i>	53
Gambar 5.2 Struktur 3 Dimensi (1) <i>Heliannuol A</i> ; (2) <i>Heliannuol B</i> ; (3) <i>Heliannuol C</i> ; (4) <i>Heliannuol D</i> ; (5) <i>Heliannuol E</i>	54
Gambar 5.3 Reseptor 2I0G Pada Aplikasi MVD.....	72
Gambar 5.4 Hasil Deteksi Lubang (<i>Cavity</i>) Pada Reseptor 2I0G.....	73

Gambar 5.5 Pada Gambar (A) Posisi Terbaik *Heliannuol A* (warna biru), *Heliannuol D* (warna hijau), dan Senyawa Erteberel (warna cokelat) Terhadap Reseptor 2I0G (A) dengan Residu Asam Amino dan Ligan dengan *Thick Lines with Fixed Colour* dan Gambar (B) Posisi Terbaik *Heliannuol B* (warna merah), *Heliannuol C* (warna kuning), *Heliannuol E* (warna ungu), dan Senyawa Erteberel (warna cokelat) Terhadap Reseptor 2I0G (A) dengan Residu Asam Amino dan Ligan dengan *Thick Lines with Fixed Colour*..... 78

Gambar 5.6 Pada Gambar (C) Posisi Terbaik *Heliannuol A* (warna biru), *Heliannuol D* (warna hijau), dan Senyawa Erteberel (warna cokelat) Terhadap Reseptor 2I0G (A) dengan Visualisasi *Backbone* dan Gambar (D) Posisi Terbaik *Heliannuol B* (warna merah), *Heliannuol C* (warna kuning), *Heliannuol E* (warna ungu), dan Senyawa Erteberel (warna cokelat) Terhadap Reseptor 2I0G (A) dengan Visualisasi *Backbone*..... 79

Gambar 5.7 Bentuk 2 Dimensi Ikatan Hidrogen Antara (A) *Heliannuol A*, (B) *Heliannuol B*, (C) *Heliannuol C*, (D) *Heliannuol D*, (E) *Heliannuol E*, (F) Erteberel dengan Reseptor 2I0G (A) Pada Garis Biru Menunjukkan Ikatan Hidrogen dan Garis Merah Menunjukkan Ikatan Sterik..... 79

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Hasil Minimalisasi Energi (kkal/mol) Senyawa <i>Heliannuol A, B, C, D, dan E</i> dengan MMFF94.....	55
Tabel 5.2 Hasil Kode SMILES Senyawa <i>Heliannuol A, B, C, D, dan E</i> serta Senyawa Erteberel.....	57
Tabel 5.3 Hasil Penentuan Sifat Fisikokimia, Penerapan Hukum lima Lipinski dan Penentuan Menembus Sawar Otak Terhadap Senyawa <i>Heliannuol A, B, C, D, E</i> dan Senyawa Erteberel. Hukum lima Lipinski Dikatakan “ya” Apabila BM, Log P, HBA, HBD Memenuhi Standar.....	58
Tabel 5.4 Hasil Prediksi ADME Senyawa <i>Heliannuols A, B, C, D, E</i> , dan Senyawa Erteberel Menggunakan Aplikasi <i>pkCSM Online Tool</i>	61
Tabel 5.5 Prediksi Toksisitas dengan Aplikasi <i>pkCSM online tool</i> dan <i>Protox II online tool</i>	69
Tabel 5.6 Hasil Validasi Reseptor Berdasarkan Nilai RMSD.....	75
Tabel 5.7 Hasil Docking Ligand <i>Heliannuol A, B, C, D, E</i> dan Erteberel Terhadap Reseptor 2I0G.....	76
Tabel 5.8 Asam Amino dan Gugus Fungsi yang Terlibat dalam Ikatan Hidrogen dan Sterik Pada Reseptor 2I0G (A).....	80

DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN

\AA	: Angstrom
β	: Beta
Π	: Phi
BBB	: <i>Blood Brain Barrier</i>
cm	: Centimeter
$^{\circ}\text{C}$: Derajat celsius
$^{\circ}\text{F}$: Derajat fahrenheit
DNA	: <i>Deoxyribo Nucleic Acid</i>
E1	: Estron
E2	: Estradiol
E3	: Estriol
ER α	: <i>Estrogen Receptor alpha</i>
ER β	: <i>Estrogen Receptor beta</i>
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography
IC ₅₀	: <i>Inhibitory Concentration of 50%</i>
IUPAC	: <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
mTOR	: Jalur Penghambatan Ripamycin
kkal	: Kilokalori
LD ₅₀	: <i>Lethal Dose 50</i>
Log P	: Logaritma Partisi
mL	: Mililiter
mm	: Milimeter
MAPK	: <i>Mitogen Activated Protein Kinase</i>
PI3K	: Phosphoinositide 3-kinase
PTEN	: <i>Phosphatase and Tension Homolog</i>
PSA	: <i>Polar Surface Activity</i>
Akt	: Protein Kinase B
PDB	: Protein Data Bank

- RMSD : *Root Mean Square Deviation*
TPSA : *Topological Polar Surface Area*



ABSTRAK

Hibbatullah. 2020. Studi *In Silico* Senyawa *Heliannuol* A, B, C, D, dan E Pada Tanaman Bunga Matahari (*Helianthus annuus* L.) Terhadap Reseptor Estrogen β (ER β) (2I0G). Skripsi. Program studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Pembimbing : (I) Dr. apt. Roihatul Muti'ah, M.Kes.
(II) apt. Alif Firman Firdausy, S.Farm., M.Biomed.

Helianthus annuus L. merupakan tanaman yang telah digunakan secara empiris serta mengandung berbagai senyawa kimia yang bermanfaat untuk mengobati berbagai jenis penyakit seperti kanker. Senyawa *Heliannuols* merupakan salah satu senyawa kimia yang terkandung dalam *Helianthus annuus* L. dan termasuk golongan seskuiterpen yang dilaporkan memiliki aktivitas sebagai antikanker. Reseptor estrogen merupakan salah satu reseptor yang dapat ditemukan pada beberapa bagian organ tubuh, yang mana saat ini diteliti mengenai kemampuannya dalam menghambat kanker terutama kanker glioma. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk memprediksi sitotoksik, toksisitas dan sifat fisikokimia dari senyawa *Heliannuol* A, B, C, D dan E secara *in silico*. Prediksi sifat fisikokimia didasarkan pada hukum lima Lipinski dan juga melihat hasil absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi dengan menggunakan *pkCSM online tool*. Prediksi toksisitas senyawa dengan menggunakan *pkCSM online tool* dan *Protox II online tool*. Sedangkan prediksi interaksi ligan dengan reseptor menggunakan *Molegro Virtual Docker* (MVD). Validasi reseptor dikatakan valid jika nilai RMSD ≤ 2 . Protein reseptor kanker yang digunakan adalah estrogen β (PDB:2I0G). Hasil menunjukkan bahwa *Heliannuol* A, B, C, D dan E memenuhi hukum lima Lipinski, dan *Heliannuol* D memiliki toksisitas paling rendah dengan nilai LD₅₀ 2.148 mg/kg. Reseptor 2I0G (A) dinyatakan valid dengan nilai RMSD ≤ 2 . Senyawa *Heliannuol* E memiliki nilai *Rerank Score* paling rendah diantara senyawa uji lainnya yaitu -80,245 kkal/mol. Aktivitas senyawa *Heliannuol* ditunjukkan oleh ikatan hidrogen pada asam amino yang aktif dan *Heliannuol* C memiliki ikatan asam amino yang paling banyak mirip dengan senyawa pembanding Erteberel yaitu Glu 305 dan Arg 346.

Kata Kunci: *Helianthus annuus*, *Heliannuols*, receptor β (ER β), *in silico*, aktivitas sitotoksik, toksisitas

ABSTRACT

Hibbatullah. 2020. Study *In Silico* of *Heliannuol* A, B, C, D, and E Compounds in Sunflower Plant (*Helianthus annuus* L.) on Estrogen Receptor β (ER β) (2I0G). Essay. Department of Pharmacy. Faculty of Medicine and Health Sciences. Maulana Malik Ibrahim State Islamic University Malang.

Advisors : (I) Dr. apt. Roihatul Muti'ah, M.Kes.
 (II) apt. Alif Firman Firdausy, S.Farm., M.Biomed..

Helianthus annuus L. is a plant that has been used empirically and it contains a variety of chemical uses that are useful for treating various types of diseases such as cancer. *Heliannuols* compound is one of the chemical compounds contained in *Helianthus annuus*L. It includes the group of sesquiterpenes which are reported to have activity as anticancer. Estrogen Receptors are one of the receptors that can be found in several parts of the body. At this time Estrogen Receptors are examined for their ability to inhibit the glioma cancer. This research aims to predict cytotoxic, toxicity and chemical physical properties of the compounds of *Heliannuol* A, B, C, D dan E with *in silico*. Physical physicochemical predictions are based on the five Lipinski laws and also see the results of absorption, distribution, metabolism, and excretion by using the *pkCSM* online tool. Prediction of compound toxicity uses the *pkCSM* online tool and the *Protox II* online tool. While the prediction of ligand interactions with receptors uses *Molegro Virtual Docker* (MVD). Receptor validation is valid if the RMSD value is ≤ 2 . The cancer receptor protein used is estrogen β (PDB: 2I0G). The result shows that *heliannuol* A, B, C, D and E meet the five Lipinski laws, and *heliannuol* D has the lowest toxicity with a value of LD₅₀ 2.148 mg / kg. The receptor of 2I0G(A) is declared valid with a value of RMSD ≤ 2 . The *heliannuol* E compound has the lowest Rerank Score among the other test compounds. It is - 80.245 kkal/mol. The activity of *heliannuol* compounds is shown by *hydrogen* bonds in active amino acids. *Heliannuol* C has the most amino acid bonds similar to those of the Erteberel comparison compounds of Glu 305 and Arg 346.

Keywords: *Helianthus annuus*, *Heliannuols*, receptor β (ER β), *in silico*, cytotoxic activity, toxicity

مستخلص البحث

هبة الله، ٢٠٢٠. دراسة في السيليكيو مركب هيليانيول أ، ب، ج، د، ه من نبات دوار الشمس (*Helianthus annus L.*) على مستقبلة هرمون الاستروجين (β ER β) (2I0G). البحث الجامعي، قسم الصيدلة، كلية الطب والعلوم الصحية بجامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج.

المشرف الأول: د. رائحة المطيبة، الماجستير. المشرف

الثاني: ألغ فمان فودسي، الماجستير.

دوار الشمس (*Helianthus annus L.*) هو النبات الذي تم استخدامه تجربياً ويحتوي على مختلف المركبات الكيميائية التي هي مفيدة لعلاج أنواع الأمراض المختلفة مثل السرطان. مركب هيليانيول هو من إحدى المركبات الكيميائية المضمنة في نبات دوار الشمس الوردة ويشمل السيسكويترين (sesquiterpen) التي لديها نشاط مضادة للسرطان. مستقبلة هرمون الاستروجين هي من إحدى المستقبلات التي يمكن العثور عليها في بعض أجزاء أعضاء الجسم، حيث كانت يستطيع شيطنة السرطان نظراً لنتائج بحثية، خاصة سرطان الرئة. يهدف هذا البحث إلى التنبؤ بسمية الخلايا، السمية والخصائص الكيميائية الفيزيائية لمركب هيليانيول أ، ب، ج، د، ه في السيليكيو. يعتمد التنبؤ بالخصائص الفيزيائية الكيميائية على القاعدة الخمسة لبينسكي والنظر إلى نتائج الامتصاص، التوزيع، التمثيل الغذائي، والإفاز باستخدام أداة التنبؤ الرقمية بخصائص الجزيئات الدوائية والسمية الصغيرة بالرسم البياني (pkCSM). التنبؤ بسمية المركب باستخدام أداة رقمية Protox II و pkCSM. في حين أن التنبؤ بالتفاعل بين ربيطة (ligand) والمستقبلات باستخدام Molegro Virtual Docker (MVD). يكون التتحقق من صحة المستقبلة صالحاً إذا كانت قيمة ≤ 2 RMSD. بروتين مستقبلة السرطان المستخدم هو هرمون الاستروجين (PDB: 2I0G). أظهرت النتائج أن هيليانيول أ، ب، ج، د، ه تستوفي القاعدة الخمسة لبينسكي، و هيليانيول د لديها أعلى سمية بقيمة LD₅₀ : 2.841 ملغم/كغ. تعتبر مستقبلة (A) 2I0G صالحة إذا كانت قيمة ≤ 2 RMSD. هيليانيول ه لديها أعلى درجة متوسطة من تصنيف مركبات الاختبار الأخرى بقيمة - ٨٠.٢٤٥ سعر حراري / مول. وأشار ربيطة الهيدروجين في الأحماض الأمينية الفعالة إلى نشاط مركبات هيليانيول. وكانت مركبة هيليانيول ج لها أكثر ربيطة الأحماض الأمينية ومماثلة لمركب Erteberel المقارن وهو Arg 346 و Glu 305.

الكلمات الرئيسية: نبات دوار الشمس، هيليانيول، مستقبلو (β ER β)، في السيليكيو، نشاط سمية الخلايا، السمية.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker merupakan penyakit yang disebabkan dari tidak normal dan tidak terkendalinya suatu sel tunggal yang dapat merusak dan menghancurkan sel ataupun jaringan yang sehat (Mulyani dan Nuryani, 2013). Menurut *National Cancer Institute* pada tahun 2016, diperkirakan terdapat sebanyak 1.685.210 kasus baru penderita kanker di seluruh dunia dan diperkirakan sebanyak 595.690 orang meninggal akibat kanker. Sedangkan prevalensi kanker di Indonesia menunjukkan peningkatan dari 1,4 per seribu penduduk pada tahun 2013 menjadi 1,79 per seribu penduduk di tahun 2018 (Riskesdas, 2018). Sehingga kasus kanker di Indonesia menempati urutan kedelapan diantara negara-negara Asia Tenggara (Kemenkes, 2019). Diantara berbagai jenis kanker, salah satu yang memiliki angka *survival rate* rendah yakni 35% adalah kanker otak (Siegel *et al.*, 2016).

Kanker otak merupakan kondisi terjadinya pertumbuhan sel secara abnormal di otak (*Cancer Research United Kingdom*, 2017). Angka insiden kanker otak ganas di dunia yaitu 3,4 per 100.000 penduduk dan angka mortalitasnya 4,25 per 100.000 penduduk per tahun (Castro *et al.*, 2003). Jumlah penderita kanker otak di Indonesia belum dapat dipastikan, tetapi berdasarkan data statistik dari *HPV and Cancer* (2016), kasus kanker otak di Indonesia pada tahun 2012 adalah 1,9 per 100.000 penduduk, sedangkan angka mortalitas kanker otak sebanyak 1,3 per 100.000 penduduk. Kanker otak sedikit berbeda dengan tumor

otak, yang mana tidak semua tumor otak bersifat kanker. Tumor merupakan kumpulan dari sel yang tumbuh secara berlebihan, yang terdiri dari tumor jinak dan tumor ganas. Tumor jinak (*benigna*) merupakan kumpulan sel yang tidak bersifat ganas dan tidak dapat menyebar ke jaringan lain, sedangkan tumor ganas (*maligna*) terdiri dari sel kanker dan dapat menyerang jaringan sehat lainnya (Nurwati dan Prasetya, 2014). Tumor otak berasal dari sel glia yang disebut juga dengan glioma. Glioma merupakan salah satu jenis tumor otak ganas yang paling sering terjadi yaitu sekitar 33% dari kasus kanker otak (*American Brain Tumor Association*, 2014).

Pengobatan yang dilakukan dalam terapi penyakit glioblastoma adalah operasi pengangkatan, kemoterapi dan radioterapi konvensional (Pointer *et al.*, 2014). Kemoterapi ataupun radioterapi merupakan terapi antikanker yang dapat menimbulkan efek samping seperti rambut rontok, gangguan kesuburan, mudah pendarahan, dan efek samping lainnya dalam pengobatannya dikarenakan penggunaan dari obat-obatan (Chan dan Ismail, 2014). Sedangkan pengobatan dari bahan alam sejauh ini dapat dijadikan sebagai alternatif, selain pengobatan dengan kemoterapi. Meskipun begitu, tidak menutup kemungkinan juga obat yang berasal dari bahan alam memiliki efek samping, tetapi efek yang dihasilkan lebih rendah dan aman (Katno dan Pramono, 2010).

Tumbuhan dimuka bumi ini terdiri dari berbagai jenis, sesuai dengan ayat dalam Al-Qur'an yang menjelaskan bagaimana Allah menciptakan tumbuhan-tumbuhan bagi hamba-Nya, salah satunya yaitu Surah An-Nahl ayat 10-11. Berdasarkan surah yang tertulis dalam Qur'an, Allah telah menumbuhkan

berbagai tanaman dengan air hujan. Dan menjadi kewajiban bagi hamba-Nya untuk memanfaatkan segala yang telah diciptakan-Nya menjadi sesuatu yang bermanfaat. Berikut merupakan bunyi dari surah An-Nahl ayat 10-11 beserta artinya.

هُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً لِكُمْ مِنْهُ شَرَابٌ وَمِنْهُ شَجَرٌ فِيهِ شُسِيمُونَ (١٠) يُنْبِتُ لَكُمْ بِهِ الرَّزْعَ وَالرَّيْتَوْنَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الشَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَا يَةً لِقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ (١١)

Artinya: “*Dia-lah yang telah menurunkan air hujan dari langit untuk kamu, sebahagiannya menjadi minuman dan sebahagiannya (menyuburkan) tumbuh-tumbuhan, yang pada (tempat tumbuhnya) kamu menggembalakan ternakmu. Dia menumbuhkan bagi kamu dengan air hujan itu tanam-tanaman; zaitun, korma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar ada tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang memikirkan.*” (QS. An-Nahl: 10-11).

Berdasarkan ayat yang telah dipaparkan, Allah telah menumbuhkan zaitun, kurma, anggur, dan semua jenis pepohonan lainnya, juga buah-buahan dan sayuran dengan air hujan (Aidh, 2008). Menurut tafsir jalalain penjelasan dari ayat di atas yaitu “*Dia menumbuhkan bagi kalian dengan air itu tanam-tanaman, zaitun, kurma, anggur dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu hal yang telah disebutkan itu (benar-benar ada tanda) yang menunjukkan akan keesaan Allah SWT (bagi kaum yang memikirkan) mengenai ciptaan-Nya sehingga mereka mau beriman karenanya*”. Salah satu cara menghargai ciptaan Allah yaitu dengan memanfaatkan segala hal yang telah diciptakan-Nya menjadi sesuatu yang berguna dalam kehidupan. Dalam hal ini, dapat memanfaatkan salah satu tanaman yang mudah didapat dan dibudiyakan yaitu tanaman bunga matahari (*Helianthus annuus L.*).

Tanaman bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) telah digunakan secara tradisional sejak dulu sebagai sumber pengobatan ataupun dimanfaatkan sebagai makanan (Saini dan Sharma, 2011). Diketahui bahwa tanaman bunga matahari memiliki manfaat dalam pengobatan yang mana salah satunya yaitu sebagai antikanker (Barlow *et al.*, 2012; Zaineddin *et al.*, 2012; Awad *et al.*, 2007; Kapadia *et al.*, 2002). Dilaporkan bahwa ekstrak etanol 96% daun bunga matahari dapat menginduksi apoptosis hingga 7,17% (Firman, 2018). Bagian daun tanaman bunga matahari mengandung senyawa seskuiterpen lakton, monoterpen, diterpen, alkaloid dan fenol (Ceccarini, 2004). Senyawa kimia yang terkandung dalam *Helianthus annuus* L. kaya akan terpenoid, khususnya sesquiterpenoid (Spring *et al.*, 1981; Macias *et al.*, 1994).

Seskuiterpen lakton merupakan salah satu inti yang penting dalam tanaman obat. Namun, aktivitas antikaner baru ditemukan dari berbagai jenis seskuiterpen lakton (Zhang *et al.*, 2005). Penghambatan jalur Nuclear Factor-kB (NF-kB) merupakan salah satu mekanisme dimana seskuiterpen lakton menghasilkan efek antikanker. NF-kB dalam sel kanker memiliki peran utama dalam menghambat apoptosis, induksi metastasis, proliferasi sel, transformasi sel, resistensi kemoterapi, dan resistensi radioterapi (Kreuger, 2012). Salah satu senyawa golongan seskuiterpen yang telah diketahui khasiatnya sebagai antikanker adalah *Heliannuols* (Ren *et al.*, 2003; Ghantous, 2010; Kuntala *et al.*, 2017). Senyawa *Heliannuol A, B, C, D, dan E* merupakan senyawa yang diekstrak dari daun tanaman bunga matahari (Macias *et al.*, 1994; Macias *et al.*, 2002). Senyawa *Heliannuol A, B, C, D, dan E* diperoleh dari daun bunga matahari yang

direndam dalam air selama 24 jam, kemudian diekstraksi kembali dengan kloroform. Pengamatan dilakukan menggunakan HPLC dengan pelarut Heksana dan Etil Asetat (Macias *et al.*, 1994; Macias *et al.*, 2000).

Terapi pengobatan terbaru antikanker melibatkan agonis ER β dalam efek penghambatan pertumbuhan beberapa kanker dan diharapkan dapat memperpanjang kelangsungan hidup pasien glioma (Sareddy *et al.*, 2015). Selektif agonis ER β merupakan agen terapi potensial untuk berbagai jenis kanker dan telah banyak dikembangkan sebagai agen terapi (Chang *et al.*, 2006; Hartman *et al.*, 2009; McPherson *et al.*, 2010; Pinton *et al.*, 2010; Nilsson *et al.*, 2011; Yu *et al.*, 2013). Menurut Sareddy *et al.* (2012), terapi ER β agonis dapat menurunkan proliferasi sel glioma. Penelitian ini difokuskan pada selektif agonis ER β karena memiliki potensi untuk digunakan sebagai agen terapi antitumor dengan mengaktifkan subtipe β dan mencegah efek proliferatif pada kanker.

Pengembangan tentang adanya penemuan pengobatan herbal terus mengalami perkembangan, hingga dikembangkannya teknologi yang dapat mempercepat proses penelitian pengobatan herbal. Teknologi berbasis komputer yang mempercepat proses penelitian pengobatan obat herbal ini dinamakan dengan uji *in silico*. Uji *in silico* merupakan suatu istilah untuk melakukan percobaan dengan metode komputer. Uji *in silico* dilakukan dengan penambatan molekul (*molecular docking*) obat baru dengan reseptor yang terpilih (Jensen, 2007). Metode *in silico* ini digunakan untuk memprediksi sifat fisikokimia, sifat farmakokinetik, toksisitas, dan *molecular docking* (Hardjono, 2016).

Molecular docking merupakan proses yang melibatkan penempatan molekul dalam konfigurasi yang sesuai untuk berinteraksi dengan reseptor. *Docking* digunakan untuk memprediksi ikatan obat dengan protein target serta untuk memprediksi afinitas dan aktivitas molekul atau disebut juga dengan uji sitotoksik (Supriya *et al.*, 2016). Tujuan dari *molecular docking* adalah untuk memprediksi konformasi yang terikat dan afinitas pengikatan. Prediksi pengikatan molekul kecil dengan protein merupakan hal yang penting karena digunakan dalam mencari pustaka virtual molekul yang mirip dengan obat sehingga ditemukan pengembangan obat lebih lanjut (Trott dan Olson, 2010). Dalam hal ini, dibutuhkan aplikasi *docking* untuk proses simulasi *docking* yaitu *Molegro Virtual Docker* (MVD). MVD merupakan salah satu aplikasi yang memiliki kemampuan terintegrasi dalam mempelajari, memprediksi dan menampilkan interaksi antara ligan dan makromolekul (*Manual Molegro Virtual Docker*, 2013).

Kurangnya informasi terkait interaksi antara senyawa *Heliannuols* sebagai agen antikanker dengan reseptor estrogen β , mendorong peneliti untuk melakukan penelitian ini. Pada penelitian ini akan dilakukan beberapa uji diantaranya adalah uji toksisitas, uji sitotoksik dan prediksi sifat fisikokimia senyawa *Heliannuol A, B, C, D, dan E*. Keamanan dari suatu senyawa yang akan masuk ke dalam tubuh ditunjukkan dengan LD₅₀, *skin sensitization*, *Ames toxicity*, dan *Hepatotoxicity* secara *in silico*. Sedangkan kemudahan dari suatu senyawa untuk diabsorbsi dan permeabilitasnya dalam tubuh ditunjukkan dengan terpenuhinya hukum lima Lipinski. Pada penelitian ini digunakan *docking* secara cepat dan fleksibel untuk

mempelajari ikatan reseptor estrogen β ($ER\beta$) dengan senyawa *Heliannuol A, B, C, D* dan *E* dengan menggunakan *Molegro Virtual Docker 6.0*.

1.2 Rumusan Masalah

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

1. Apakah senyawa *Heliannuol A, B, C, D* dan *E* memiliki sifat fisikokimia yang baik ditunjukkan dari hukum lima Lipinski?
2. Apakah senyawa *Heliannuol A, B, C, D* dan *E* memiliki interaksi melalui ikatan dengan reseptor estrogen β ($ER\beta$) secara *in silico*?
3. Berapakah kelas toksisitas senyawa *Heliannuol A, B, C, D*, dan *E* menurut *Globally Harmonized System (GHS)* secara *in silico*?

1.3 Tujuan

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

1. Memprediksi sifat fisikokimia senyawa *Heliannuol A, B, C, D*, dan *E* ditinjau dari hukum lima Lipinski.
2. Memprediksi interaksi senyawa *Heliannuol A, B, C, D*, dan *E* melalui ikatan dengan reseptor estrogen β ($ER\beta$) secara *in silico*.
3. Memprediksi kelas toksisitas senyawa *Heliannuol A, B, C, D*, dan *E* menurut GHS secara *in silico*.

1.4 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan informasi dan bukti ilmiah mengenai aktivitas senyawa *Heliannuol A, B, C, D, dan E* sebagai agen antikanker melalui ikatan dengan reseptor estrogen β (ER β) secara *in silico*.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Ligan (senyawa) yang digunakan adalah *Heliannuol A, B, C, D, dan E*.
2. Protein target yang digunakan adalah reseptor estrogen β (ER β).
3. Uji *in silico* antara ligan (senyawa) *Heliannuol A, B, C, D, dan E* dengan reseptor target menggunakan aplikasi *Molegro Virtual Docker 6.0*.
4. Parameter yang diukur pada proses *molecular docking* adalah *Rerank Score*, jarak ikatan, nilai RMSD, ikatan hidrogen, dan ikatan sterik.
5. Parameter kelas toksisitas diukur berdasarkan nilai LD₅₀, *skin sensitization*, *Ames toxicity* dan *Hepatotoxicity* menggunakan *pkCSM online tool* dan *Protox II online tool*.
6. Parameter prediksi sifat fisikokimia berupa berat molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktan air (Log P), jumlah ikatan antar atom yang dapat berotasi (Torsion), *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), *Hydrogen Bond Donors* (HBD) dan *Topological Polar Surface Area* (TPSA) menggunakan aplikasi *pkCMS online tool* dan *Protox II online tool*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Metode *In Silico* dalam Perspektif Islam

Bioinformatika adalah bidang ilmu dimana biologi, ilmu komputer dan ilmu informasi bergabung menjadi satu dengan mengelola dan menganalisis data biologis menggunakan teknik komputasi canggih. Permodelan *in silico* adalah bentuk permodelan berbasis komputer yang teknologinya diterapkan dalam mengidentifikasi target obat atau proses penemuan obat (Kumar *et al.*, 2011). Kemajuan teknologi komputer dalam proses penemuan obat baru ini belum ada pada zaman nabi, namun Allah telah menggambarkan pentingnya ilmu pengetahuan dalam Al-Qur'an. Hal tersebut Allah gambarkan untuk dijadikan pembelajaran dan motivasi dalam menguasai berbagai cabang ilmu pengetahuan. Berikut merupakan surah yang berisi firman Allah yang berkaitan dengan ilmu pengetahuan yaitu Surah Al-Mujadilah ayat 11.

يَا أَيُّهَا الَّذِينَ آمَنُوا إِذَا قِيلَ لَكُمْ تَفَسَّحُوا فِي الْمَجَالِسِ فَافْسُحُوا يَعْسِحَ اللَّهُ لَكُمْ وَإِذَا قِيلَ انْشُرُوا فَانْشُرُوا يَرْفَعُ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنْكُمْ وَالَّذِينَ أَوْتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ حَسِيرٌ (١١)

Artinya: "Hai orang-orang beriman apabila dikatakan kepadamu: "Berlapang-lapanglah dalam majlis", maka lapangkanlah niscaya Allah akan memberi kelapangan untukmu. Dan apabila dikatakan: "Berdirilah kamu", maka berdirilah, niscaya Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat. Dan Allah Maha Mengetahui apa yang kamu kerjakan." (QS. Al-Mujadilah: 11).

Menurut tafsir Jalalain penjelasan dari ayat di atas yaitu (Hai orang-orang yang beriman, apabila dikatakan kepada kalian, "Berlapang-lapanglah) berluas-luaslah (dalam majelis") yaitu majelis tempat Nabi SAW. berada, dan majelis

zikir sehingga orang-orang yang datang kepada kalian dapat tempat duduk. Menurut suatu qiraat lafal al-majaalis dibaca al-majlis dalam bentuk mufrad (maka lapangkanlah, niscaya Allah akan memberi kelapangan untuk kalian) di surga nanti. (Dan apabila dikatakan, "Berdirilah kalian") untuk melakukan salat dan hal-hal lainnya yang termasuk amal-amal kebaikan (maka berdirilah) menurut qiraat lainnya kedua-duanya dibaca fansyuzuu dengan memakai harakat damah pada huruf Syinnya (niscaya Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman di antara kalian) karena ketaatannya dalam hal tersebut (dan) Dia meninggikan pula (orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat) di surga nanti. (Dan Allah Maha Mengetahui apa yang kalian kerjakan). Berdasarkan tafsir tersebut dikatakan bahwa Allah akan meninggikan derajat orang yang diberi ilmu pengetahuan, serta menyuruh hamba-Nya untuk mengikuti majelis-majelis yang berarti secara tidak langsung menyuruh untuk menambah wawasan dan pengetahuan. Pengembangan teknologi yang ada saat ini termasuk dari usaha setiap hamba-Nya dalam mengamalkan ajaran dalam Al-Quran yaitu dengan mengembangkan dan memperluas ilmu pengetahuan.

Salah satu teknologi yang kini berkembang untuk mempercepat proses penemuan obat baru adalah *in silico*. Uji *in silico* ini dilakukan dengan menambatkan molekul (*molecular docking*) antara obat dengan reseptor (Jensen, 2007). *Molecular docking* memberikan kontribusi yang penting dalam proses penemuan obat (Schlick, 2010). Tujuan dari *molecular docking* adalah untuk memprediksi konformasi yang terikat dan afinitas pengikatan antara ligan dengan reseptor (Trott dan Olson, 2010).

2.2 Tinjauan Bunga Matahari (*Helianthus annuus* L.)

2.2.1 Klasifikasi dan Morfologi

Berikut merupakan klasifikasi dari tanaman *Helianthus annuus* L. menurut Saini dan Sharma (2011).

Kingdom : Plantae

Divisi : Angiospermae

Subdivisi : Eudicots

Kelas : Asterids

Orde : Asterales

Famili : Asteraceae

Subfamili : Helianthoideae

Spesies : *Helianthus annuus* L.



Gambar 2.1 *Helianthus annuus* L.
(Dwivedi dan Sharma, 2014)

Helianthus annuus L. merupakan tanaman tahunan yang kokoh dan tegak. Memiliki tinggi sekitar 1-3 meter, akar tanaman dewasanya memiliki penyebaran lateral dan serat yang besar. Batangnya setinggi 1-6,5 kaki (30-200 cm) berbentuk hispid, bulat bercabang dan kasar. Bunga matahari memiliki cabang sederhana hingga yang cabangnya banyak, jenis yang biasa dibudidayakan yaitu berkeping dua. Daunnya berseberangan dan bentuknya kecil *deltoid-ovate* tapi lebih banyak yang berbentuk hati. Panjang daun sekitar 1,5-8 inci (4-20 cm) dan lebarnya 1,2-6 inci (3-15 cm). Memiliki bunga dengan panjang 0,6-1,6 inci (1,5-4 cm) dan berwarna kuning. Bunganya cakram sempurna, mempunyai 5 lobus mahkota, panjang lobus mahkota 5-8 mm, berwarna ungu kecoklatan hingga kuning. Buahnya achenes dengan panjang 0,1-0,3 inci (3-6 mm), berwarna abu-abu

kecoklatan dan terkadang terdapat bintik-bintik garis. *Helianthus annuus* L. cocok dengan suhu antara 43-82 °F (6-28 °C). *Helianthus annuus* L. dewasa dapat menerima suhu minimum hingga 28,4 °F (-2 °C) (Dwivedi dan Sharma, 2014).

2.2.2 Kandungan Senyawa

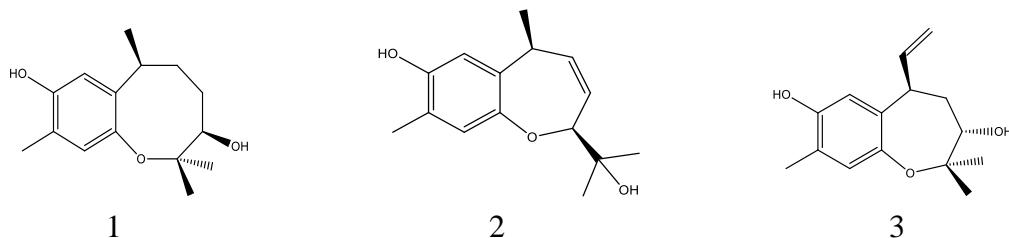
Helianthus annuus L. mengandung karbohidrat, fenolik, flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, fitosterol, steroid, triterpenoid, dan minyak (Subashini dan Rakshitha, 2012). Ekstrak metanol dari biji *Helianthus annuus* L. menunjukkan kandungan karbohidrat, amilum, glikosid, protein, flavonoid, tanin, alkaloid, saponin, fitosterol, steroid dan minyak murni (Subashini dan Rakshita, 2012). Ekstrak metanol bunga *Helianthus annuus* L. mengandung senyawa terpenoid, triterpene, steroid, dan seskuiterpen (Mutiah dkk., 2012). Batang *Helianthus annuus* L. mengandung senyawa hemiselulosa yang dapat digunakan sebagai antitumor (Barlow *et al.*, 2012) serta mengandung senyawa alkaloid, fenol, dan flavonoid (Kamal, 2011). Ekstrak etanol daun *Helianthus annuus* L. menunjukkan kandungan alkaloid 1,23%, glikosida 0,04%, saponin 1,46%, flavonoid 0,03%, terpenoid 0,64%, senyawa fenolik 0,34%, dan juga senyawa seskuiterpen lakton (Ceccarini, 2004; Ibrahim *et al.*, 2014).

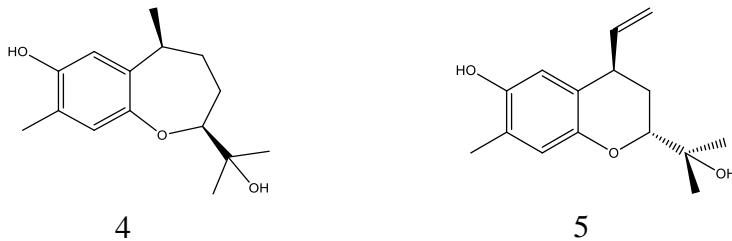
2.3 Tinjauan Senyawa Seskuiterpen

Seskuiterpen lakton adalah metabolit sekunder yang dimiliki kelompok terpenoid C15, yang mana terbentuk dari tiga unit isoprena. Seskuiterpen merupakan kelompok besar metabolit sekunder. Hingga saat ini, telah diidentifikasi lebih dari 90% lakton diperoleh dari isolasi famili tumbuhan

Asteraceae. Seskuiterpen lakton juga diisolasi dari famili yang lebih rendah lagi yaitu Magnoliaceae dan Lauraceae dan juga kelompok turunan seperti Apiaceae. Seskuiterpen lakton diisolasi dari semua bagian tanaman, namun paling banyak terdapat pada daun dan kelenjar trikoma pada daun (Marin, 2003). Seskuiterpen lakton merupakan salah satu inti yang penting dalam tanaman obat. Namun, aktivitas antikanker baru ditemukan dari berbagai jenis seskuiterpen lakton (Zhang *et al.*, 2005). Salah satu senyawa golongan seskuiterpen yang diperoleh dari tanaman *Helianthus annuus* L. adalah *Heliannuols* (Kuntala *et al.*, 2017).

Heliannuol A, B, C, D, dan E merupakan senyawa yang diperoleh dari ekstrak daun *Helianthus annuus* L. (Macias *et al.*, 1994; Macias *et al.*, 2002). *Heliannuols* merupakan senyawa golongan seskuiterpen lakton yang diketahui jalur penghambatan antikanker melalui NF- κ B dan berperan dalam apoptosis, induksi metastasis, proliferasi sel, transformasi sel, resistensi kemoterapi, dan resistensi radioterapi (Ren *et al.*, 2003; Ghantous, 2010; Kreuger, 2012; Kuntala *et al.*, 2017). Selain itu, *Heliannuol B, C, dan D* mempunyai cincin benzoxepin yang menunjukkan aktivitas melawan berbagai jenis kanker melalui penghambatan enzim phosphoinositida 3-kinase (PI3K) (Hefron *et al.*, 2011). Berikut merupakan struktur dari senyawa heliannuol A, B, C, D, dan E yang telah digambar dengan *Chem Bio Draw Ultra* versi 12.





Gambar 2.2 Struktur Kimia (1) Heliannuol A; (2) Heliannuol B;
(3) Heliannuol C; (4) Heliannuol D; dan (5) Heliannuol E

2.4 Tinjauan Kanker

Kanker atau tumor ganas merupakan pertumbuhan sel jaringan tubuh yang tidak normal karena adanya neoplasia, displasia, dan hiperplasia. Neoplasia adalah kondisi sel pada jaringan yang berproliferasi secara tidak normal dan invasif, displasia merupakan kondisi sel yang tidak berkembang normal yang ditunjukkan adanya perubahan pada nukleus (inti sel), dan hiperplasia merupakan kondisi sel normal pada jaringan yang mengalami pertumbuhan berlebihan (Ariani, 2015). Beberapa jenis sel pada organ tubuh manusia akan tumbuh dan membelah secara terkontrol, namun ketika sel menjadi tua dan rusak maka sel tersebut akan mati dan diganti dengan sel-sel baru, kematian sel ini disebut dengan apoptosis. Ketika terjadi kerusakan pada proses tersebut, maka kanker dapat terbentuk dan menyebabkan sel tumbuh secara tidak terkendali atau disebut mutasi DNA (*deoxyribose nucleic acid*) (National Cancer Institute, 2015).

Pertumbuhan sel secara normal diatur oleh beberapa gen diantaranya yaitu *growth promoting protooncogenes*, *growth inhibiting cancer supresor genes* (*antioncogenes*) dan gen yang berperan pada kematian sel secara terprogram (apoptosis). Selain ketiga gen tersebut, terdapat juga gen yang berperan pada

perbaikan DNA yang berpengaruh pada proliferasi sel. Mutasi pada genom dan terjadinya keganasan ditimbulkan karena ketidakmampuan dalam perbaikan DNA yang rusak (Maramis, 2005). Sel kanker memiliki enam karakter yang mendasari terjadinya perubahan fisiologi sel dan secara bersamaan menentukan keganasan dari sel kanker (Karsono, 2006).

1. *Sustaining Proliferative Signaling*

Sel normal mampu merespon adanya sinyal penghambatan pertumbuhan dan sel normal memiliki waktu proliferasi dan istirahat tertentu. Sedangkan pada sel kanker tidak mampu merespon sinyal penghambatan pertumbuhan, dikarenakan adanya mutasi beberapa gen pada sel kanker.

2. *Evading Growth Suppressors*

Sel normal membutuhkan sinyal dalam melakukan pertumbuhan dan pembelahan, sedangkan pada sel kanker dapat memproduksi *growth factors* dan *growth factor receptors* sendiri. Sel kanker berproliferasi tanpa tergantung pada sinyal pertumbuhan normal, karena mutasinya maka sel kanker dapat memperpendek *growth factor pathways*.

3. *Activating Invasion and Metastasis*

Sel normal dapat berpindah dari bagian tubuh satu ke bagian tubuh lain. Sedangkan perpindahan sel kanker dari bagian primernya menuju bagian sekunder atau tersiernya merupakan faktor utama adanya kematian sel. Mutasi pada sel kanker memungkinkan terjadinya peningkatan aktivitas enzim yang terlibat dalam invasi sel kanker.

4. Enabling Replicative Immortality

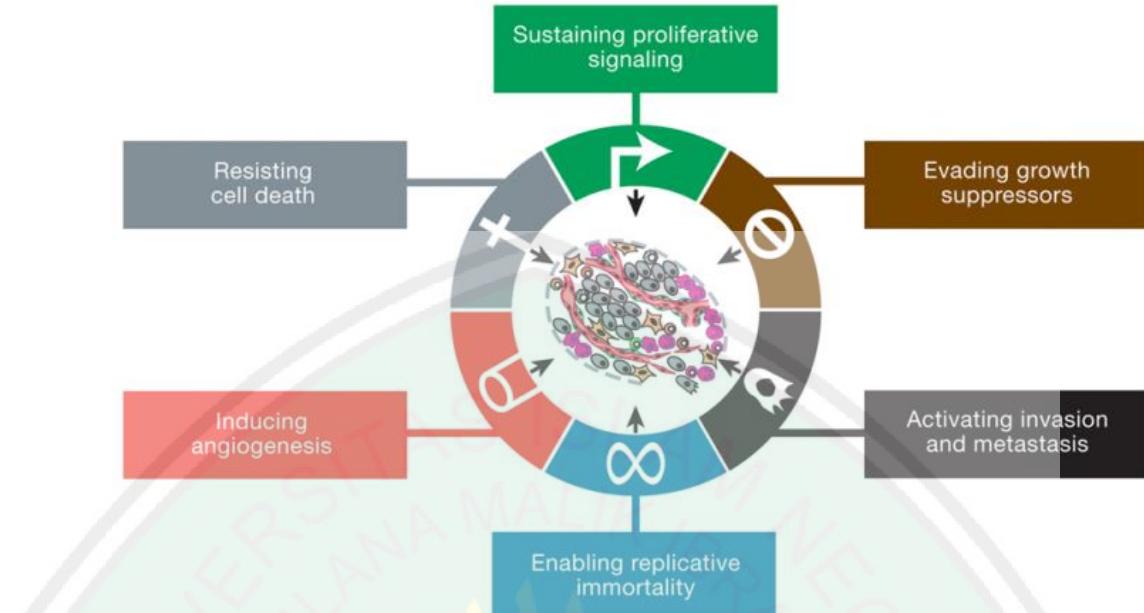
Pembelahan pada sel normal dapat berhenti jika sudah mencapai jumlah tertentu dan mencapai kedewasaan. Penghitungan jumlah sel ini ditentukan melalui pendekatan telomere pada kromosom yang akan berlangsung setiap ada replikasi DNA. Untuk menjaga telomere yang panjang, diperlukan mekanisme tertentu sehingga memungkinkan sel tetap membelah diri. Kecacatan dalam regulasi pendekatan telomere ini memungkinkan sel kanker memiliki *unlimited replicative potential*.

5. Inducing Angiogenesis

Pembuluh darah pada sel normal digunakan untuk mendapatkan suplai oksigen dan nutrisi, bentuk dan karakter pembuluh darah sel normal lebih sederhana atau konstan hingga sel tersebut dewasa. Sel kanker dapat menginduksi angiogenesis, yang merupakan pertumbuhan pembuluh darah baru di sekitar jaringan kanker. Pembentukan pembuluh darah ini diperlukan sel kanker untuk bertahan hidup dan bermetastasis menuju bagian tubuh yang lain.

6. Resisting Cell Death (Apoptosis)

Apabila terdapat kerusakan DNA yang tidak dapat diperbaiki maka sel normal akan mengurangi jumlah kerusakan DNA dengan mekanisme apoptosis. Sedangkan sel kanker tidak memiliki kepekaan terhadap mekanisme apoptosis dikarenakan mutasi gen regulator dan sinyal apoptosis.

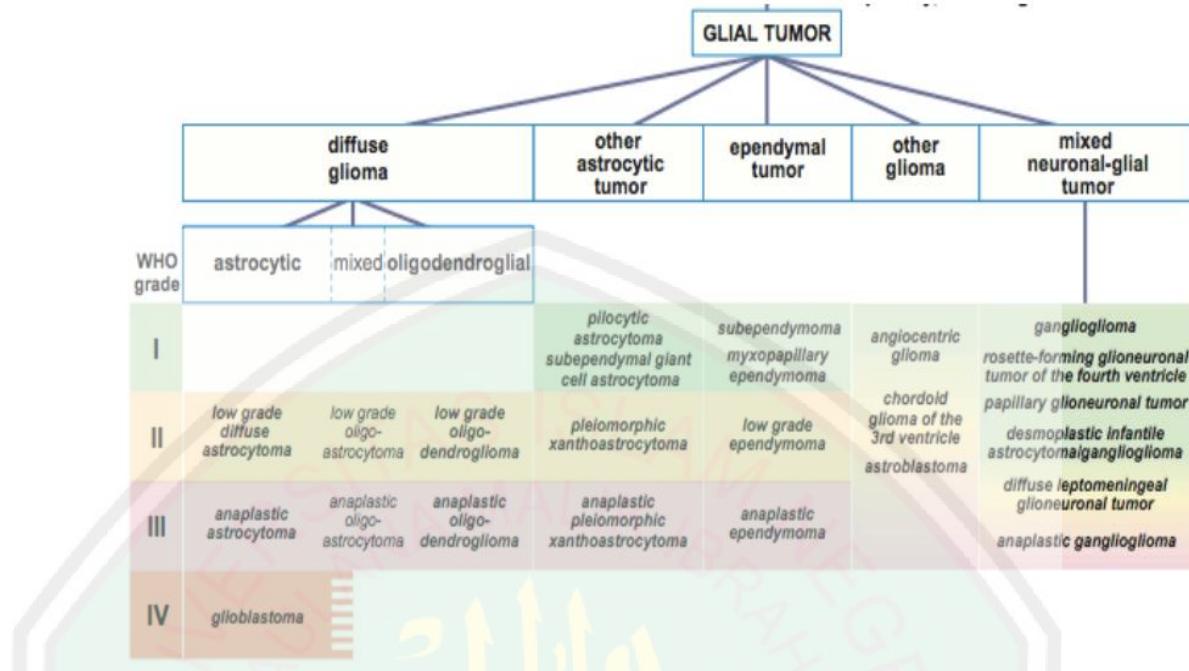


Gambar 2.3 Enam Tanda Utama Kanker (*The Hallmarks of Cancer*) (Hanahan dan Robert, 2011)

2.3.1 Kanker Otak

Kanker otak merupakan suatu penyakit yang terjadi karena pertumbuhan sel otak yang tidak terkendali, terdiri dari kanker otak primer dan kanker otak sekunder. Kanker otak primer terdiri dari kanker otak ganas dan kanker otak jinak. Kanker otak ganas merupakan sekumpulan sel yang tumbuh secara tidak normal atau tidak terkontrol dan dapat menyebar ke jaringan sel lain, yang meliputi tumor sel glial (glioma), yaitu glioma derajat rendah (astrocitoma grade I/II, oligodendrogioma), glioma derajat tinggi (astrocitoma anaplastik (grade III), glioblastoma (grade IV), anaplastik (oligodendrogioma). Sedangkan kanker otak sekunder atau metastasis merupakan kanker otak yang disebabkan oleh adanya kanker lain, seperti kanker paru, payudara, melanoma, kolorektal dan ginjal (Kemenkes, 2015).

Tumor otak merupakan suatu lesi ekspansif pada otak yang bersifat jinak (*benigna*) sedangkan kanker otak bersifat ganas (*maligna*) yang keduanya membentuk massa dalam ruang tengkorak kepala (*intra kranial*) atau sumsum tulang belakang (*medulla spinalis*) (Irlbacher *et al.*, 2002). Tumor sel glial (glioma) merupakan tumor otak primer yang paling banyak terjadi dengan derajat keganasan yang beragam (Perry dan Wesseling, 2016). Glioma merupakan tumor yang paling umum dan paling mematikan yang menyebabkan 70-80% kematian dari total tumor otak yang terjadi pada manusia (Ohgaki dan Kleihues, 2005; Schwartzbaum *et al.*, 2006; Ohgaki dan Kleihues, 2009). Glioma merupakan tumor otak primer yang paling sering terjadi pada orang dewasa dan dapat tumbuh di otak maupun di tulang belakang, namun paling banyak di otak. Glioma berasal dari jaringan sel glial dan merupakan kelompok neoplasma yang bersifat heterogen dalam sistem saraf pusat yang dilihat dari pertumbuhan dan kemampuan invasifnya, penyebaran berdasarkan usia dan jenis kelamin, kemampuan progresi dan reaksinya dalam menerima obat-obatan terbaru (Omuro dan DeAngelis, 2013). Berikut merupakan klasifikasi glioma menurut Louis *et al.* (2007).

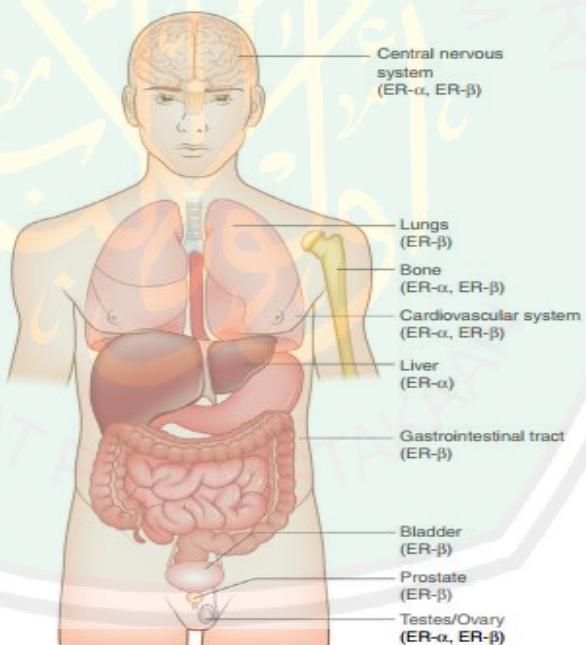


Gambar 2.4 Klasifikasi Glioma (Louis *et al.*, 2007)

2.5 Tinjauan Reseptor Estrogen

Reseptor estrogen merupakan salah satu reseptor intraseluler (*nuclear receptor*) yang memperantara aksi hormon 17 β -estradiol (estrogen) di dalam tubuh. Estrogen juga berperan penting pada perkembangan otak, penyakit autoimun, dan metabolisme tulang. Estrogen juga dapat memicu pertumbuhan, proliferasi dan metastase berbagai tipe kanker (Zullies, 2006). Sel yang mengandung reseptor estrogen akan merespon jika estrogen masuk ke dalam sel. Estrogen merupakan hormon steroid karbon 18 yang terdiri dari estron (E1), estradiol (E2), dan estriol (E3) (Craig *et al.*, 2005). Estradiol merupakan estrogen paling poten dan produk dari ovarium, sedangkan estron merupakan produk utama dari konversi androstenedion. Estron juga dihasilkan di hati melalui konversi 17

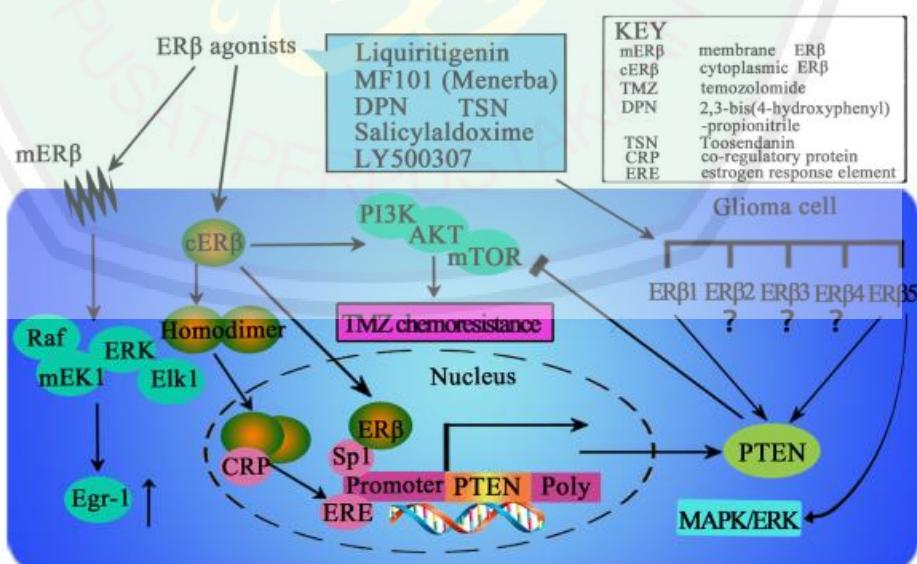
β -hydroxysteroid dehydrogenase dari estradiol. Estriol adalah estrogen utama yang dibentuk oleh plasenta selama kehamilan. Pada tubuh manusia terdapat dua reseptor estrogen diantaranya *estrogen receptor alpha* (ER α) dan *estrogen receptor beta* (ER β) (Beshay dan Bruce, 2013). Kedua reseptor tersebut terdapat pada jenis jaringan yang berbeda dan terdapat beberapa perbedaan pada ekspresinya. ER α dapat ditemukan pada sel kanker endometrium, payudara, stroma ovarium, dan hipotalamus. Sedangkan ER β dapat ditemukan pada ginjal, otak, tulang, jantung, paru-paru, mukosa usus, prostat, dan sel endotel (Putra dkk., 2008). Berikut merupakan gambaran letak dari reseptor estrogen pada tubuh manusia (Warner *et al.*, 2016).



Gambar 2.5 Letak Reseptor Estrogen Pada Tubuh (Warner *et al.*, 2016)

2.5.1 Estrogen Receptor β (ER β)

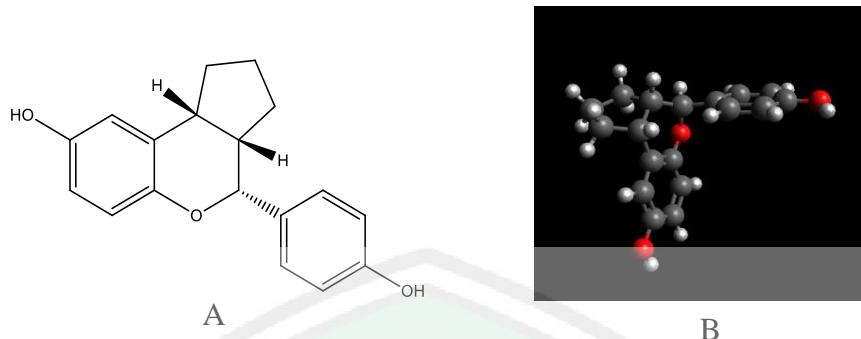
Estrogen adalah hormon steroid yang memainkan peran penting dalam sistem saraf pusat (Santagati *et al.*, 1994; Carroll *et al.*, 1995). ER β memiliki fungsi yang cukup berbeda dari fungsi ER α dan ER β bertindak sebagai penekan tumor sel spesifik jaringan dengan tindakan antiproliferatif (Thomas dan Gustafsson, 2011; Nilsson *et al.*, 2011). ER β pada sistem saraf pusat lebih diamati karena memiliki jumlah lebih banyak dan lebih sensitif dalam berikatan dengan estrogen (Rettberg *et al.*, 2013; Villa *et al.*, 2016). Setiap bentuk ER β memiliki fungsi yang unik, ER β 1 dan ER β 5 merupakan bentuk ER β utama yang diekspresikan pada glioma manusia (Leung *et al.*, 2006; Thomas dan Gustafsson, 2011; Li *et al.*, 2013). Ekspresi ER β 1 dan ER β 5 dapat meningkatkan ekspresi PTEN, yang mengarah pada regulasi negatif persinyalan PI3K/Akt/mTOR dan MAPK dan mendukung penekanan ER β pada glioma (Li *et al.*, 2013). Berikut merupakan mekanisme persinyalan ER β dalam sel glioma (Lan *et al.*, 2017).



Gambar 2.6 Mekanisme Persinyalan ER β dalam Sel Glioma (Lan *et al.*, 2017)

Berdasarkan skema di atas, dapat dijelaskan bahwa terapi agonis ER β diketahui dapat menurunkan proliferasi dari sel glioma, terdapat beberapa ligan alami yang selektif terhadap agonis ER β antara lain adalah liquiritigenin, S-equol, dan genistein (Nilsson dan Gustafsson, 2011; Sareddy *et al.*, 2012). Ketiga senyawa tersebut dilaporkan mempunyai potensi antikanker (Sareddy *et al.*, 2015). Menurut Sareddy *et al.* (2012), agonis selektif ER β seperti DPN (Diarylpropionitrile), MF101 dan liquiritigenin mempunyai efek potensial dalam menghambat proliferasi sel glioma dan pertumbuhan tumor. Menurut Sareddy *et al.* (2016), terapi LY500307 signifikan mengurangi pertumbuhan tumor secara *in vivo*.

Agonis ER β LY500307 (Erteberel) memiliki potensi secara spesifik mengurangi proliferasi sel-sel glioma dengan potensi tinggi. Erteberel memiliki kemampuan untuk mengurangi perkembangan glioma secara *in vivo* dan meningkatkan kelangsungan hidup tikus. Erteberel juga diketahui dapat melewati *Blood Brain Barier* dan secara signifikan dapat digunakan sebagai agen terapi untuk meningkatkan waktu kelangsungan hidup pasien glioma, dengan toksitas obat yang terbatas (Sareddy *et al.*, 2016). Kode protein reseptor estrogen β pada protein data bank yang memiliki *native ligand* berupa senyawa Erteberel adalah 2I0G (Norman *et al.*, 2006). Kode protein tersebut mengikat senyawa Erteberel dengan nama IUPAC ($3\alpha S,4R,9bR$)-4-(4-hydroxyphenyl)-1,2,3,3 α ,4,9 b -hexahydrocyclopenta[c] chromen-8-ol dan termasuk dalam klasifikasi *homo sapiens*. Berikut merupakan struktur 2D dan 3D dari Erteberel.



Gambar 2.7 (A) Struktur 2D Erteberel dan (B) Struktur 3D Erteberel

Berdasarkan struktur senyawa Erteberel dapat dilihat bahwa Erteberel termasuk senyawa golongan flavonoid. Menurut Markham (1988), flavonoid merupakan salah satu golongan fenol yang mengandung 15 atom karbon dalam inti dasarnya, dan tersusun pada konfigurasi C₆-C₃-C₆ yang merupakan dua cincin aromatis yang dihubungkan oleh tiga karbon. Flavonoid mempunyai sifat polar karena mengandung sejumlah hidroksil yang tidak terikat bebas atau sejumlah gula.

2.6 Tinjauan *In Silico* dan Aplikasi Penunjang

2.6.1 Definisi *In Silico*

Uji *in silico* merupakan uji percobaan atau uji pendahuluan yang dilakukan dalam basis komputer. Uji *in silico* dilakukan melalui penambatan molekul (*molecular docking*) obat baru dengan reseptor terpilih. *Molecular docking* dilakukan untuk menyamakan molekul obat baru (ligan atau molekul kecil) ke dalam reseptor (biomakromolekul) yang telah terpilih dengan memperhatikan sifat keduanya (Jensen, 2007). Metode *docking* merupakan metode komputasi yang

digunakan untuk memprediksi ikatan non kovalen reseptor (makromolekul) dengan ligan (molekul kecil) secara efisien. Tujuan metode *docking* adalah untuk memprediksi konformasi yang terikat dan afinitas pengikatan. Dalam pengembangan obat lebih lanjut diperlukan perpustakaan virtual molekul yang mirip dengan obat tersebut, maka perlu adanya prediksi pengikatan molekul kecil dengan protein (Trott dan Olson, 2010).

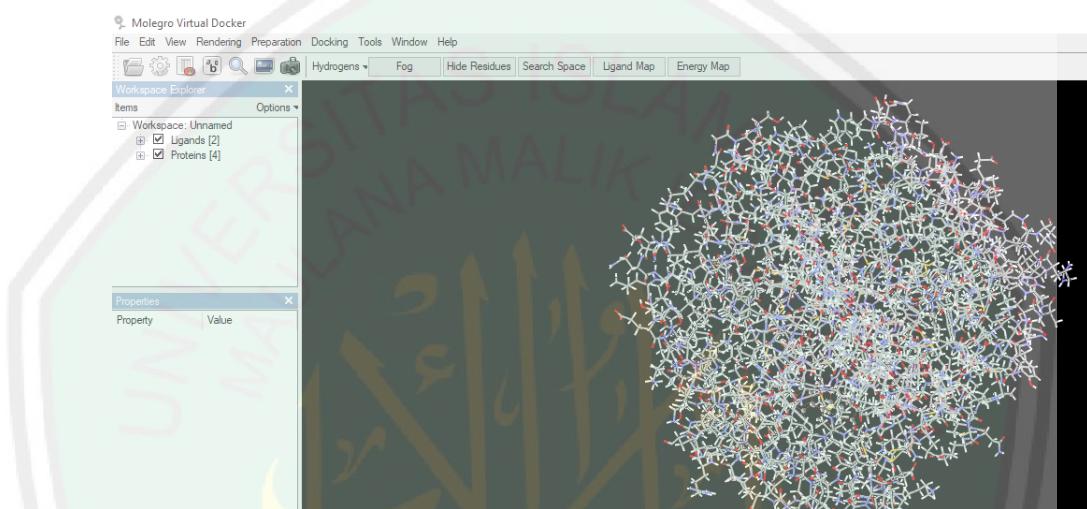
In silico memberikan keuntungan dalam penemuan obat secara efisien dengan menggunakan metode permodelan yaitu simulasi dengan bantuan teknologi komputasi (Pelkonen *et al*, 2011). Uji *in silico* dilakukan dengan melakukan *docking* pada molekul yang akan diprediksi aktivitasnya dengan sel target yang terpilih. Hasil dari uji *in silico* adalah *Rerank Score* (nilai energi ikatan), energi ikatan tersebut menunjukkan jumlah energi yang dibutuhkan untuk membentuk ikatan antara ligan dengan reseptor. Jika hasil yang diperoleh semakin kecil maka semakin stabil ikatan tersebut, kestabilan ikatan ligan dengan reseptor dapat memprediksi bahwa aktivitasnya semakin besar (Hardjono, 2012).

2.6.2 Aplikasi Penunjang

2.6.2.1 Molegro Virtual Docker

Molegro Virtual Docker (MVD) adalah sebuah aplikasi untuk memprediksi cara ligan berinteraksi dengan makromolekul. Pada proses kerja MVD dibutuhkan struktur tiga dimensi protein dan ligan, *docking* ligan yang dilakukan oleh MVD cukup fleksibel, sehingga geometri optimal ligan akan ditentukan selama *docking* tersebut (*Manual Molegro Virtual Docker*, 2011). Selain itu, mempelajari dan memprediksi interaksi ligan dengan makromolekul

juga dapat digunakan dengan aplikasi *Molegro Virtual Docker*. Identifikasi model pengikatan ligan dilakukan dengan mengevaluasi beberapa ligan dan memperkirakan energi interaksinya dengan makromolekul (Manual Molegro Virtual Docker, 2013). Berikut merupakan tampilan dari aplikasi *Molegro Virtual Docker 6.0*

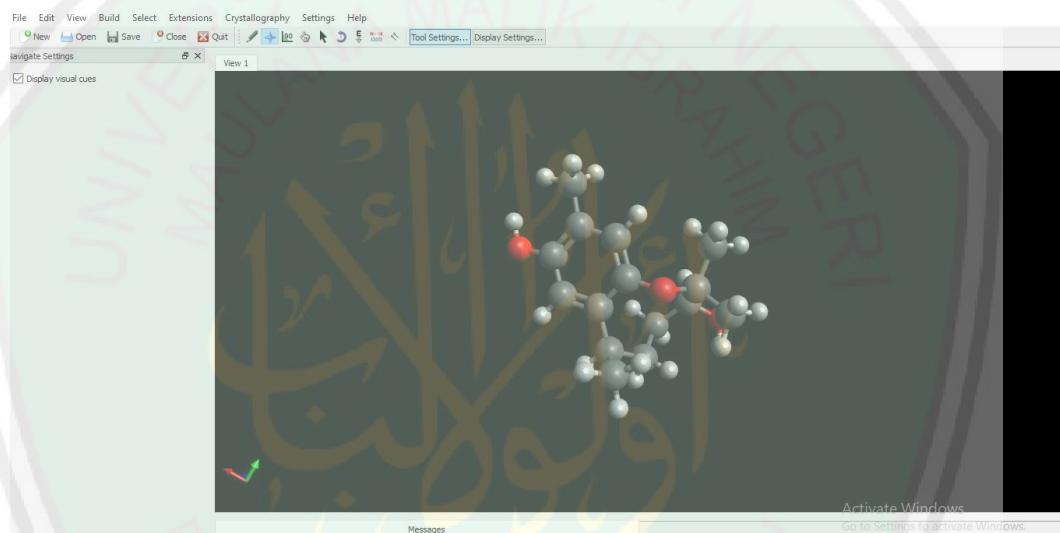


Gambar 2.8 Tampilan *Molegro Virtual Docker 6.0*

2.6.2.2 Avogadro

Avogadro telah berkembang selama enam tahun pertama untuk menjadi aplikasi penting dalam membangun, mengedit, memvisualisasikan dan menganalisis data kimia maupun molekuler. Avogadro digunakan untuk mendukung ruang lingkup yang terkait dengan kimia, termasuk biomolekul. Avogadro tersedia secara bebas di bawah lisensi sumber terbuka dari website (<http://avogadro.openmolecules.net>). Avogadro telah dikembangkan menjadi visualisator canggih yang dirancang untuk penggunaan kimia komputasi, pemodelan molekul, bioinformatika, dan bidang lainnya yang terkait. Penggunaan

secara umum terkait dengan penggunaan struktur molekul, menganalisa berbagai jenis kimia komputasi dengan format file CML. Avogadro menggunakan model, tampilan, paradigma, dan pengontrol. Model ini terdiri dari data seperti molekul, atom, dan bond. Avogadro juga memberikan tampilan kimia semantik dan platform untuk visualisasi maupun analisis. Aplikasi ini dapat memberikan cara yang mudah untuk penggunaannya (Hanwell *et al.*, 2012). Berikut merupakan tampilan dari aplikasi Avogadro dapat diamati pada gambar 2.9.

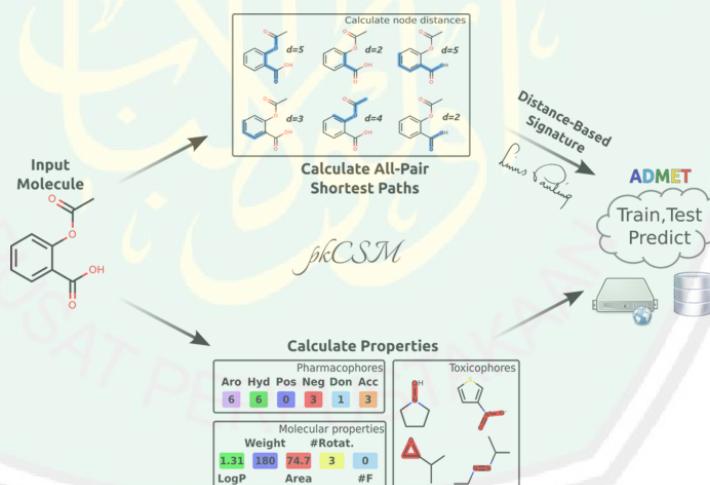


Gambar 2.9 Tampilan Avogadro (Hanwell *et al.*, 2012)

2.6.2.3 *pkCSM Online Tool*

pkCSM merupakan aplikasi *online* yang dapat diakses secara gratis untuk memprediksi sifat farmakokinetik dan toksitas molekul. Interaksi farmakokinetik dan toksitas ini penting untuk menghasilkan potensi obat yang efektif. Profil farmakokinetik senyawa menentukan sifat penyerapan, distribusi, metabolisme, dan ekskresi (ADME) senyawa tersebut. Sifat ADMET (adsorbsi,

distribusi, metabolisme, ekskresi dan toksisitas) merupakan hal yang penting dalam pengembangan obat tahap awal. Evaluasi pengujian sifat ADMET membutuhkan waktu yang lama dan biaya yang mahal sehingga diperlukan pengujian secara komputasi. Pendekatan secara komputasi ini digunakan untuk mengoptimalkan sifat farmakokinetik dan toksisitas yang memungkinkan dalam pengembangan calon obat baru. Pendekatan ini dapat dilakukan dengan aplikasi *pkCSM* yang digunakan untuk menganalisa dan optimalisasi sifat farmakokinetik dan toksisitas yang tersedia dalam situs web gratis (<http://structure.bioc.cam.ac.uk/pkcsd>). Aplikasi *online* ini telah terbukti dapat bekerja dengan baik (Pires *et al.*, 2015). Berikut merupakan alur dari aplikasi *pkCSM tool* dapat dilihat pada gambar 2.10.

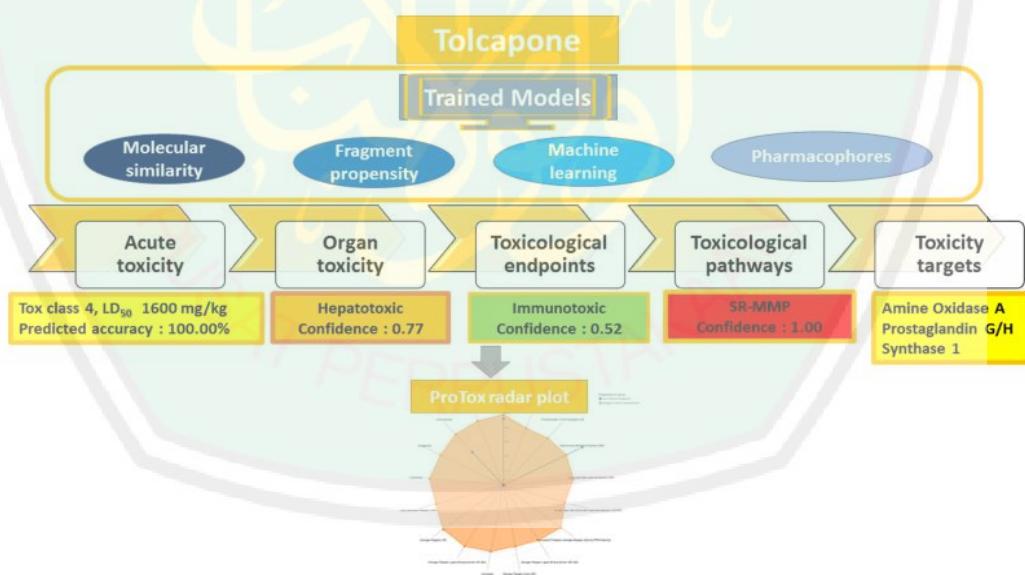


Gambar 2.10 Alur Aplikasi *pkCSM tool* (Pires *et al.*, 2015)

2.6.2.4 *Protox II Online Tool*

Protox II merupakan aplikasi *online* yang digunakan untuk memprediksi toksisitas suatu bahan kimia. *Protox II* dalam uji *in silico* akan membantu untuk

meningkatkan pemilihan target senyawa. *Protox II* memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan beberapa model komputasi yang lain, diantaranya dapat mengklasifikasikan berbagai tingkat toksisitas seperti toksisitas oral, toksisitas organ (hepatotoksitas), titik akhir toksikologi (seperti mutagenitas, karsinotoksitas, sitotoksitas, dan imunotoksitas), jalur toksikologis, dan target toksisitas yang dapat memberikan informasi mekanisme molekuler yang dapat terjadi dari respon toksik tersebut. *Protox II* merupakan aplikasi *online* untuk memprediksi toksisitas secara komputasi yang tersedia secara bebas dan memungkinkan prediksi titik akhir toksikologi terbanyak hingga saat ini (Banerjee *et al.*, 2018). Berikut merupakan salah satu contoh hasil analisa toksistas menggunakan aplikasi *online* *Protox II* dapat dilihat pada gambar 2.11.



Gambar 2.11 Hasil Analisa *Protox II Online Tool* (Banerjee *et al.*, 2018)

2.7 Permodelan Molekul

Pemodelan molekul dapat dilakukan dengan perangkat lunak berupa aplikasi, diantaranya adalah *Autodock*, *ArgusLab*, *Molegro Virtual Docker*, *Chem Office Ultra*, dan *Hyperchem* (O'Donoghue dan Tharp 2005). Pemodelan molekul memiliki keuntungan antara lain biaya yang dibutuhkan lebih murah dan waktunya lebih efisien dibandingkan dengan metode secara farmakologi (Tang dan Marshall, 2011). Terdapat dua cara analisa aktivitas biologi molekular dalam perancangan obat dengan menggunakan metode ini antara lain rancangan obat berbasis ligan apabila telah diketahui struktur molekul aktif dengan reseptornya (*ligand based drug design*) atau disebut juga rancangan obat secara tidak langsung. Selain itu, terdapat rancangan berbasis struktur apabila belum diketahui struktur molekul aktifnya dan telah diperoleh reseptor target yang diinginkan (*structure based drug design*) atau rancangan secara langsung (Siswandono, 2016).

Prediksi ikatan pada protein target dengan menggunakan metode komputasi yang telah diketahui struktur 3 dimensi protein target disebut dengan *Ligand based drug design*. Tujuan dari *ligand based drug design* adalah mencari gugus-gugus yang bertanggung jawab terhadap aktivitas serta memiliki sifat-sifat lipofilik, elektronik, dan sterik (Siswandono, 2016). Sedangkan *Structure based drug design* merupakan kebalikan dari *ligand based drug design* dimana struktur tiga dimensi dari protein target tidak diketahui. Metode ini menggunakan reseptor dengan model farmakofor untuk menemukan calon obat. Prinsip dari metode ini dengan merancang molekul-molekul yang dapat masuk dalam lubang (*cavity*)

pada sisi reseptor dan dapat berinteraksi dengan reseptor (target biologis) (Siswandono, 2016).

2.8 Interaksi Obat dengan Reseptor

Interaksi obat dengan reseptor bergantung pada sifat geometri, konformasi, dan elektronik dari molekul obat dan reseptor. Perkembangan teori kimia kimia dan metode komputasi modern dipadukan dengan teknologi komputer canggih, mampu menggambarkan proses interaksi obat dengan reseptor. Prinsip dasarnya adalah mengekspresikan sifat-sifat geometri, konformasi dan elektronik dari molekul obat dan reseptor menjadi fungsi energi, dan dengan meminimalkan fungsi energi akan didapatkan bentuk geometri yang optimal dan paling stabil yang mencerminkan kekuatan ikatan obat dengan reseptor. Kekuatan ikatan obat dengan reseptor inilah yang dapat mempresentasikan aktivitas biologis obat, yang dinyatakan dengan *rerank score* (Siswandono, 2011). Afinitas pengikatan atau energi ikatan merupakan aspek penting yang harus diperhatikan pada interaksi suatu molekul dengan makromolekul. Hasil dari energi ikatan yang rendah menandakan bahwa suatu senyawa tersebut membutuhkan energi yang sedikit untuk melakukan pengikatan atau interaksi. Sehingga jika nilai energi ikatan yang dihasilkan lebih rendah maka dapat meningkatkan potensi untuk melakukan pengikatan dengan protein target atau reseptor (Pujiastuti dan Sanjaya, 2017).

Rerank score merupakan parameter yang sering digunakan untuk melihat kekuatan ikatan obat dengan reseptor (Thomsen dan Christensen, 2006). Sedangkan nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*) adalah parameter yang

digunakan untuk mengevaluasi kemiripan dua buah struktur. Kemiripan tersebut diukur berdasarkan perbedaan jarak atom sejenis. Metode *docking* dikatakan valid jika memiliki nilai $\text{RMSD} \leq 2$ (Ruswanto, 2015). Interaksi ligan dengan reseptor melibatkan ikatan-ikatan kimia diantaranya ikatan kovalen, hidrogen, van der waals, hidrofobik, ionik (elektrostatik), dipol-dipol dan transfer muatan (Young, 2009).

2.8.1 Ikatan Kovalen

Ikatan kovalen merupakan ikatan yang terbentuk melalui penggunaan secara bersamaan elektron valensi yang diperoleh dari sumbangan atom-atom. Jika terdapat dua atom yang mempunyai keelektronegatifan sama dan bereaksi, maka terjadi tumpang tindih elektron sehingga dihasilkan konfigurasi gas. Contohnya adalah dua atom fluor yang masing-masing mempunyai tujuh elektron pada kulit terluarnya. Apabila kedua atom fluor tersebut bergabung, maka keduanya mempunyai delapan elektron termasuk sepasang elektron yang saling tumpang tindih. Pada ikatan kovalen juga terdapat gaya tarik elektrostatik antara elektron dan kedua inti atom (Riswiyanto, 2015).

Ikatan kovalen merupakan ikatan kimia yang paling kuat sehingga ikatan tersebut bersifat ireversibel dan hanya dapat pecah apabila terdapat pengaruh katalisator enzim tertentu, rata-rata kekuatan ikatan kovalen adalah 10 kkal/mol. Ikatan kovalen menghasilkan kompleks ikatan yang cukup stabil melalui interaksi obat dengan reseptor sehingga dapat digunakan untuk tujuan pengobatan tertentu. Contohnya adalah obat dengan efek yang berlangsung cukup lama dan bersifat

ireversibel (obat antibakteri dan antikanker), maka dibutuhkan ikatan yang kuat seperti ikatan kovalen (Siswandono, 2016).

2.8.2 Ikatan Ionik

Ikatan ion adalah ikatan yang terjadi karena adanya gaya tarik menarik elektrostatik antara ion-ion yang muatannya berlawanan. Ikatan antar atom yang terjadi karena adanya perbedaan muatan pada atom-atom yang berinteraksi disebut juga dengan ikatan ionik. Ikatan ionik merupakan interaksi non kovalen yang paling kuat, namun ikatan ini dapat dihilangkan oleh pH yang ekstrem atau dengan kadar garam yang tinggi Apabila jarak antar ion semakin jauh maka kekuatan tarik menariknya akan semakin berkurang (Yuwono, 2009; Siswandono, 2016).

2.8.3 Interaksi Ion Dipol atau Dipol-Dipol

Apabila suatu senyawa berada dalam fase cair atau padat, maka molekul-molekulnya berdekatan satu sama lain dan kutubnya saling berinteraksi. Kutub negatif dari satu molekul akan menarik kutub positif dari molekul lain sedangkan kutub yang sama akan saling tolak-menolak (Riswiyanto, 2015). Adanya perbedaan keelektronegatifan atom C dengan atom lainnya (atom O dan atom N) akan membentuk distribusi elektron tidak simetrik atau disebut dengan dipol, serta dapat membentuk ikatan dengan ion ataupun dipol lain, dengan daerah kerapatan elektron tinggi ataupun rendah (Siswandono, 2016).

2.8.4 Ikatan Hidrogen

Ikatan hidrogen merupakan gaya tarik menarik antara atom hidrogen yang terikat pada atom elektronegatif besar dengan molekul lain di sekitarnya. Ikatan

hidrogen lebih kuat didandingkan gaya van der waals, sehingga adanya ikatan ini dalam suatu zat memberikan titik cair dan titik didih yang relatif tinggi. Ikatan hidrogen mempunyai gaya antar molekul yang relatif kuat serta unsur-unsur yang mempunyai keelektronegatifan besar, seperti Flourin (F), Oksigen (O), dan Nitrogen (N) (Purba, 2007). Ikatan hidrogen lebih lemah dibandingkan ikatan kovalen O-H tetapi lebih kuat dibandingkan interaksi antar molekul seperti kebanyakan hidrogen dalam air terbentuk linear tetapi tidak sistematis, dengan ikatan yang lebih kuat pada salah satu atom oksigen. Dalam cairan, molekul-molekul ini lebih ke arah yang dapat meminimalkan energi potensialnya (Oxtoby, 2001).

2.8.5 Ikatan Van Der Waals

Ikatan van der waals merupakan gaya tarik menarik antara molekul atau atom yang tidak bermuatan dan letaknya berdekatan, serta terjadi karena sifat kepolaran dari molekul atom (Siswandono, 2016). Ikatan van der waals juga dapat diartikan dengan gerakan molekul yang saling mendekati, pergerakan tersebut menunjukkan adanya tarikan khusus antara satu molekul dengan molekul lain. Ikatan van der waals disebut juga dengan ikatan sterik, kekuatan dari ikatan tersebut akan berkurang dengan cepat apabila jarak antar molekul meningkat. Ikatan sterik dapat memberikan peluang adanya interaksi hidrogen dengan asam amino yang aktif dan mempengaruhi ikatan hidrogen yang ada (Muchtaridi *et al.*, 2018b). Meskipun ikatan van der waals secara individual lemah tetapi jika dijumlahkan maka ikatan ini merupakan pengikat yang cukup bermakna, terutama untuk senyawa dengan berat molekul tinggi (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

2.8.6 Ikatan Hidrofobik

Ikatan hidrofobik merupakan ikatan yang menggabungkan bagian non polar molekul obat dengan bagian non polar reseptor biologis (Siswandono dan Soekardjo, 2000). Kebanyakan molekul obat memiliki bagian non polar yang akan membentuk suatu ikatan antara permukaan obat dengan tubuh yang mempunyai cairan bersifat polar (Muchtaridi *et al.*, 2018b). Apabila bagian non polar molekul obat yang tidak larut dalam air dengan molekul air yang ada di sekitarnya bergabung melalui ikatan hidrogen maka terbentuk struktur “quasi-crystalline”. Jika terdapat dua bagian non polar seperti gugus hidrokarbon molekul obat dan bagian non polar pada reseptor dalam lingkungan air yang bersamaan, maka akan mengalami penekanan yang menyebabkan jumlah molekul air yang berkontak dengan bagian non polar berkurang. Sehingga struktur “quasi-crystalline” akan pecah dan dihasilkan peningkatan entropi untuk isolasi struktur non polar. Penggabungan seperti hal tersebut dapat dikatakan sebagai ikatan hidrofobik (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

2.8.7 Transfer Muatan

Kompleks yang terbentuk antara dua molekul melalui ikatan hidrogen merupakan kasus khusus dari fenomena umum kompleks donor dan aseptor, yang distabilkan melalui daya tarik menarik elektrostatik antara molekul donor elektron dan molekul aseptor elektron. Kompleks transfer muatan dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu senyawa yang berfungsi sebagai donor elektron dan sebagai aseptor elektron. Senyawa yang digolongkan sebagai donor elektron yaitu senyawa yang banyak mengandung π -elektron, seperti alkena, alkuna, dan

senyawa aromatik yang tersubtitusi dengan gugus elektron donor. Sedangkan senyawa sebagai asptor elektron yaitu senyawa yang kekurangan π -elektron seperti 1,3,5-trinitrobenzena dan senyawa-senyawa lain yang mempunyai gugus pendorong elektron sangat kuat (Siswandono, 2016).

2.9 Tinjauan Hukum lima Lipinski

Analisis 2.245 obat berdasarkan data dasar *World Drugs Index*, telah dilakukan oleh Lipinski *et al.* pada tahun 1971. Hasil dari analisa tersebut memberikan kesimpulan bahwa senyawa akan sulit diabsorpsi dan permeabilitasnya rendah apabila mempunyai berat molekul lebih besar 500, nilai log koefisien partisi oktanol/air ($\log P$) lebih besar dari +5, ikatan H donor (HBD), yang dinyatakan dengan jumlah gugus O-H dan N-H, lebih besar dari 5, dan ikatan H aseptor (HBA), yang dinyatakan dengan jumlah atom O dan N, lebih besar dari 10. Hasil dari analisis tersebut dinamakan sebagai hukum lima Lipinski dikarenakan semua nilai merupakan kelipatan dari angka lima (Kesuma dkk., 2018). Hukum lima Lipinski adalah hukum yang digunakan untuk mengevaluasi kemiripan obat atau menentukan senyawa kimia dengan aktivitas farmakologis, memiliki kemungkinan untuk dijadikan calon obat aktif pada manusia. Menurut Lipinski *et al.* (1971), sifat molekul yang penting dalam farmakokinetik obat pada tubuh manusia meliputi penyerapan, distribusi, metabolisme, dan ekskresi (ADME) (Lipinski *et al.*, 2001; Lipinski, 2004).

2.10 Tinjauan Toksisitas

Uji toksisitas dilakukan untuk mendapatkan informasi toksisitas suatu bahan kimia pada hewan uji, diantaranya adalah uji toksisitas akut, subkronik, dan kronik (Donatus, 2005; Syamsul dkk., 2015). Uji toksisitas yang dilakukan secara laboratorium menghabiskan banyak tenaga, waktu, dan biayanya juga mahal, sehingga perlu adanya prediksi toksisitas suatu bahan kimia terlebih dahulu secara *in silico*. Prediksi toksisitas menggunakan model Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas (HKSA) dilakukan untuk penelitian eksperimental lebih lanjut (Djalil *et al.*, 2012). Prediksi toksisitas dapat diukur dengan parameter LD₅₀, *ames toxicity*, *hepatotoxicity* dan *skin sensitization* menggunakan aplikasi *pkCSM online tool* dan *Protox II online tool* untuk memprediksi kelas toksisitas suatu bahan kimia.

Ames toxicity merupakan metode yang digunakan untuk mengetahui potensi mutagenik senyawa dengan menggunakan bakteri (Kesuma dkk., 2018). *Hepatotoxicity* merupakan suatu reaksi yang muncul akibat penumpukan zat-zat berbahaya di dalam hepar (Andrade *et al.*, 2007). *Skin sensitization* merupakan reaksi hipersensitivitas yang diinduksi oleh bahan kimia yang dapat menembus sratum korneum pada kulit (Goebel *et al.*, 2012). *Lethal Dose 50* merupakan besaran yang digunakan untuk menentukan dosis tunggal suatu senyawa yang kemungkinan dapat menyebabkan kematian atau mempunyai efek toksik pada 50% hewan percobaan yang telah diberikan perlakuan (Hodgson dan Levi, 2000). Apabila nilai LD₅₀ yang dihasilkan semakin kecil maka senyawa tersebut dikatakan semakin toksik, dan juga sebaliknya. Berdasarkan *Globally Harmonized System* (GHS) tahun 2013, kelas toksisitas senyawa dibagi menjadi kelas I adalah

fatal jika tertelan ($LD_{50} \leq 5$ mg/kg), kelas II adalah fatal jika tertelan ($5 < LD_{50} \leq 50$ mg/kg), kelas III adalah toksik jika tertelan ($50 < LD_{50} \leq 300$ mg/kg), kelas IV adalah berbahaya jika tertelan ($300 < LD_{50} \leq 2000$ mg/kg), kelas V adalah mungkin berbahaya jika tertelan ($2000 < LD_{50} \leq 5000$ mg/kg), kelas VI adalah tidak toksik ($LD_{50} > 5000$ mg/kg) (El-Din *et al.*, 2016).

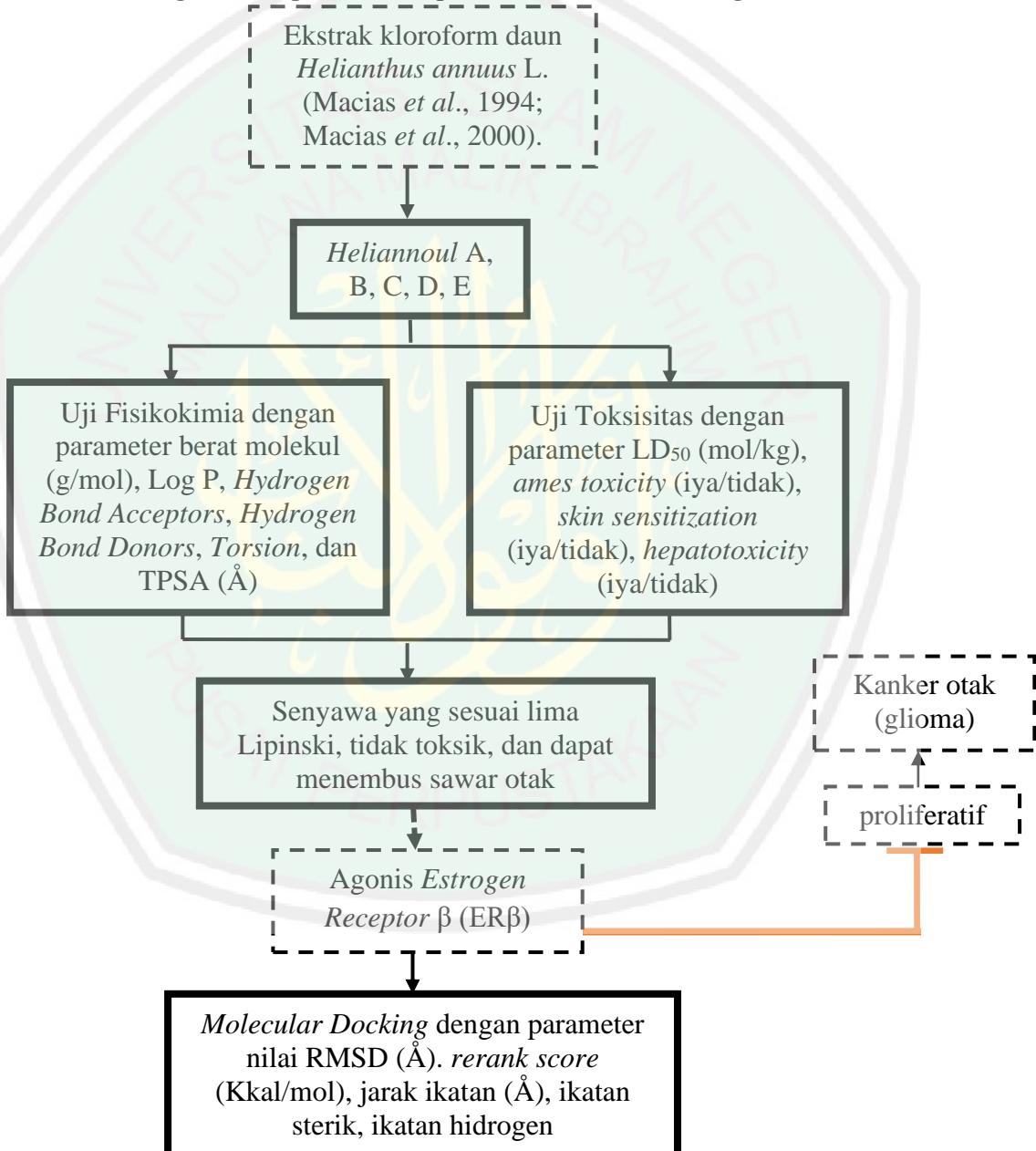


BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL

3.1 Bagan Kerangka Konseptual

Kerangka konseptual dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:



Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konsep

Keterangan:

-  : Tidak diteliti
-  : Diteliti
-  : Alur proses
-  : Menghambat
-  : Masuk dan berikatan

3.2 Uraian Kerangka Konsep

Bunga matahari (*Helianthus annuus* L.) telah dimanfaatkan sebagai pengobatan secara empiris. Salah satu senyawa yang terkandung dalam bunga matahari yaitu *Heliannuols*. Kandungan senyawa *Heliannuol A, B, C, D, dan E* diperoleh dari daun bunga matahari yang direndam dalam air selama 24 jam, kemudian diekstraksi kembali dengan kloroform (CH_2Cl_2). Pengamatan dilakukan menggunakan HPLC dengan pelarut Heksana dan Etil Asetat hingga didapatkan senyawa *Heliannuol A, B, C, D, dan E* (Macias *et al.*, 1994; Macias *et al.*, 2000). *Heliannuols* merupakan senyawa golongan seskuiterpen yang mana golongan ini diketahui memiliki aktivitas antikanker (Zhang *et al.*, 2005; Kuntala *et al.*, 2017). Namun, belum ada penelitian secara spesifik yang mengidentifikasi efek farmakologi senyawa *Heliannuols* terhadap sel kanker. Prediksi mengenai aktivitas senyawa *Heliannuols* pada *Helianthus annuus* L. sebagai agen antikanker dapat dilakukan menggunakan pendekatan secara *in silico*.

Pendekatan secara *in silico* digunakan untuk memberikan prediksi secara sederhana dengan menghubungkan struktur sifat fisikokimia melalui analisis

aplikasi yang berkaitan dengan potensi sebagai bahan berkhasiat dalam pengobatan (Muchtaridi *et al*, 2018a). Tidak hanya sifat fisikokimia tetapi studi *in silico* juga digunakan untuk memprediksi toksisitas, dan sitotoksik suatu senyawa. Senyawa *Heliannuol A, B, C, D* dan *E* pada uji sitotoksik digunakan sebagai ligan dari *Estrogen Receptor β* (*ERβ*) dengan kode protein 2I0G. Aktivitas sitotoksik senyawa dapat diamati secara *in silico* melalui penambatan molekul (*molecular docking*) obat baru (senyawa) dengan reseptor (Jensen, 2007). Senyawa *Heliannuol A, B, C, D*, dan *E* diharapkan mampu berikatan dengan *Estrogen Receptor β* (*ERβ*) melalui teknik *molecular docking* yang mana nantinya diharapkan tempat berikatan antara senyawa dengan reseptor sama dengan tempat berikatan obat dengan reseptor sehingga dimungkinkan ikatan senyawa dengan reseptor mempunyai aktivitas yang sama dengan obat dalam penghambatan proliferasi dari sel kanker. Serta mampu dikembangkan sebagai calon obat baru yang dapat menurunkan angka terjadinya kanker otak atau glioblastoma.

3.3 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka konsep di atas dapat dirumuskan hipotesis sebagai berikut:

1. Senyawa *Heliannuol A, B, C, D* dan *E* memiliki sifat fisikokimia yang baik dengan terpenuhinya hukum lima Lipinski secara *in silico*.
2. Senyawa *Heliannuol A, B, C, D* dan *E* memiliki interaksi berupa ikatan dengan reseptor estrogen β (*ERβ*) secara *in silico*.

3. Senyawa *Heliannuol* A, B, C, D dan E tergolong dalam kelas toksisitas yang rendah menurut GHS secara *in silico*.



BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan yaitu penelitian eksperimental dengan rancangan *pre experimental one shot case study* berbasis komputer secara *in silico* dari senyawa *Heliannuol A, B, C, D* dan *E* terhadap reseptor estrogen β ($ER\beta$) menggunakan aplikasi *Chem Bio Draw Ultra* versi 12 (*CambridgeSoft*), *Avogadro*, *Molegro Virtual Docker 6.0 (Molegro ApS)*, *pkCSM online tool*, *Ptotox II online tool*.

4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Januari 2020 sampai Maret 2020 di Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini diantaranya

1. Senyawa *Heliannuol A, B, C, D* dan *E* yang terdapat dalam tanaman bunga matahari (*Helianthus annuus L.*)
2. Reseptor $ER\beta$ dengan kode protein 2I0G dari (www.rcsb.org) secara *in silico*.

4.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah nilai *Rerank Score*, jarak ikatan, nilai RMSD, 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), TPSA, ikatan hidrogen, ikatan sterik, LD₅₀, *skin sensitization*, *Ames toxicity*, *Hepatotoxicity*.

4.3.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah aplikasi *Chem Bio Draw Ultra* versi 12 (*CambridgeSoft*), *Avogadro*, *Molegro Virtual Docker 6.0 (Molegro ApS)*, *pkCSM online tool*, *Ptotox II online tool* dalam sistem komputer Toshiba.

4.3.4 Definisi Operasional

1. *Heliannuol A* merupakan senyawa yang diduga mempunyai aktivitas antikanker dengan rumus kimia C₁₅H₂₂O₃ dan massa molar 250,338 g/mol.
2. *Heliannuol B* merupakan senyawa yang diduga mempunyai aktivitas antikanker dengan rumus kimia C₁₅H₂₀O₃ dan massa molar 248,322 g/mol.
3. *Heliannuol C* merupakan senyawa yang diduga mempunyai aktivitas antikanker dengan rumus kimia C₁₅H₂₀O₃ dan massa molar 248,322 g/mol.
4. *Heliannuol D* merupakan senyawa yang diduga mempunyai aktivitas antikanker dengan rumus kimia C₁₅H₂₂O₃ dan massa molar 250,338 g/mol.
5. *Heliannuol E* merupakan senyawa yang diduga mempunyai aktivitas antikanker dengan rumus kimia C₁₅H₂₀O₃ dan massa molar 248,322 g/mol.

6. *Topological Polar Surface Area* (TPSA) merupakan besaran nilai yang menjelaskan kemampuan yang dimiliki suatu senyawa untuk dapat menembus membran (Kelder *et al.*, 1999; Martin, 2005).
7. *BBB Permeant* merupakan kemampuan senyawa menembus sawar otak berdasarkan sifat fisikokimia yang dimiliki senyawa tersebut.
8. Nilai RMSD merupakan simpangan protein dari konformasi awalnya.
9. *Rerank score* merupakan parameter yang sering digunakan untuk melihat kekuatan ikatan obat dengan reseptor (Thomsen dan Christensen, 2006).
10. Logaritma koefisien partisi oktanol/air (Log P) merupakan perbandingan konsentrasi senyawa dalam campuran dua fase yang tidak larut, biasanya obat hidrofobik memiliki koefisien partisi oktanol/air tinggi.
11. *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA) merupakan atom yang berikatan dengan pasangan elektron bebas.
12. *Hydrogen Bond Donors* (HBD) merupakan atom hidrogen yang terikat pada atom yang lebih elektronegatif.
13. LD₅₀ merupakan jumlah senyawa yang diberikan yang dapat menyebabkan kematian 50% kelompok hewan coba (Kesuma dkk., 2018).
14. *Skin sensitization* merupakan reaksi hipersensitivitas yang diinduksi oleh bahan kimia yang mampu menembus sratum korneum pada kulit (Goebel *et al.*, 2012)
15. *Ames toxicity* merupakan metode yang dilakukan secara luas untuk menilai potensi mutagenik senyawa dengan menggunakan bakteri (Kesuma dkk., 2018).

16. *Hepatotoxicity* merupakan suatu reaksi yang muncul akibat penumpukan zat-zat berbahaya di dalam hepar (Andrade *et al.*, 2007).

4.4 Alat dan Bahan Penelitian

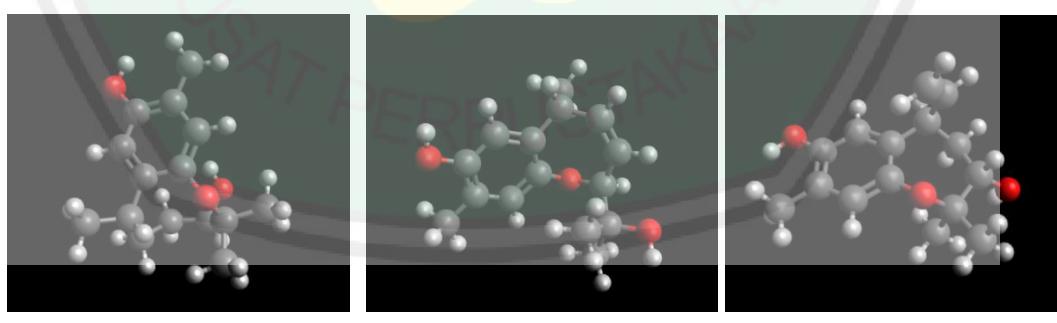
4.4.1 Alat

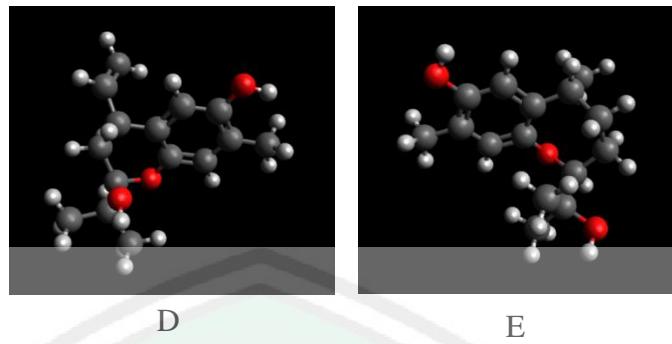
Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu satu set laptop Toshiba serta perangkat lunak sistem operasi Windows 10, *Chem Bio Draw Ultra* versi 12 (*CambridgeSoft*), *Avogadro*, *Molegro Virtual Docker* 6.0 (*Molegro ApS*), *pkCSM online tool*, *Ptotox II online tool*.

4.4.2 Bahan

4.4.2.1 Struktur Ligan *Heliannuol A, B, C, D dan E*

Ligan yang digunakan dalam penelitian ini adalah struktur dari *Heliannuol A, B, C, D* dan *E* digambar dengan aplikasi *Chem Bio Draw Ultra* versi 12 (*CambridgeSoft*) dan *Chem Bio 3D Ultra* versi 12 (*CambridgeSoft*). Berikut merupakan gambar struktur tiga dimensinya.





Gambar 4.1 Struktur Tiga Dimensi (A) *Heliannuol A*, (B) *Heliannuol B*, (C) *Heliannuol C*, (D) *Heliannuol D*, (E) *Heliannuol E*

4.4.2.2 Struktur Tiga Dimensi *Estrogen Receptor β* (ER β)

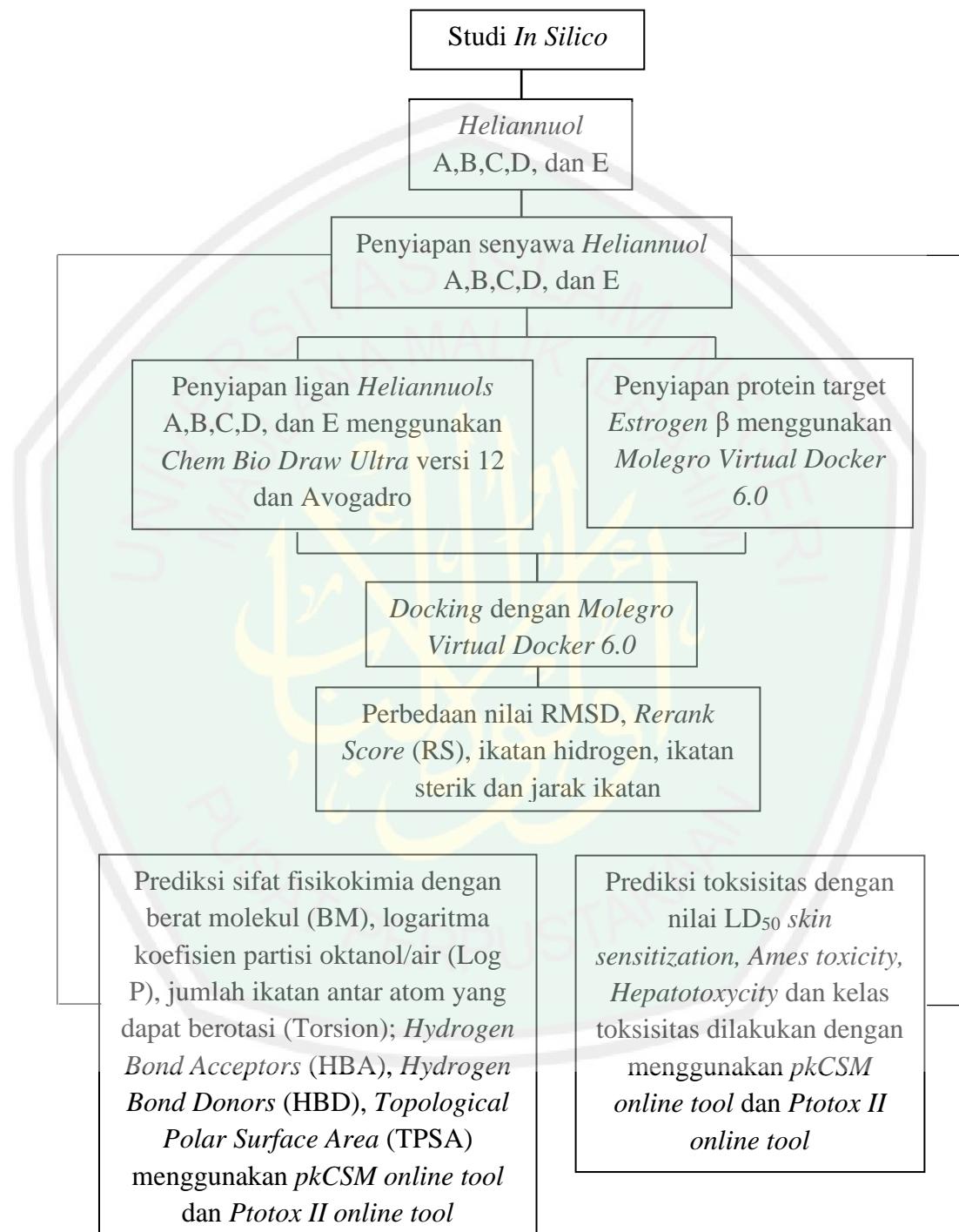
Struktur tiga dimensi *Estrogen Receptor β* (ER β) dengan kode protein (2I0G) sebagai protein reseptor antikanker glioblastoma yang dapat diunduh dari situs *protein data bank* (PDB) (<http://www.rcsb.org/structure/2I0G>) (Norman *et al.*, 2006).



Gambar 4.2 Struktur 3 Dimensi Reseptor Estrogen β (2I0G)

4.5 Skema Kerja Penelitian dan Prosedur Penelitian

4.5.1 Skema Kerja Penelitian



Gambar 4.3 Skema Kerja Penelitian

4.5.2 Prosedur Penelitian

4.5.2.1 Preparasi Ligan

Ligan dipreparasi dengan digambar struktur molekul 2D dengan program *Chem Bio Draw Ultra* versi 12, kemudian disalin pada program *Avogadro* untuk membuat struktur 3D. 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 dan lainnya. Setelah itu dilakukan minimalisasi energi untuk melihat bentuk sterokimia senyawa dan bentuk yang paling stabil dengan menekan **Calculation →MMFF94**

→ Perform MMFF94 → Minimization, kemudian disimpan dalam bentuk mol2 (SYBYL2.*mol2)). Setelah disimpan kemudian dilakukan proses *docking* terhadap target reseptor.

4.5.2.2 Preparasi Protein Reseptor

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

4.5.2.3 Penambatan *Molecular Docking*

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

1. Mengunduh reseptor dari situs Protein Data Bank, reseptor yang diunduh adalah *Estrogen β*.

2. Deteksi tempat pada reseptor dimana obat akan terikat (berinteraksi). Hal ini biasanya dilakukan secara otomatis oleh program komputer.
3. Meletakkan struktur 3D senyawa ke dalam lubang terpilih. Ada beberapa cara untuk meletakkan struktur senyawa dalam lubang, dalam program *Molegro Virtual Docker* dilakukan dengan cara “allign” 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.
4. 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.
5. 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 didocking dan *cavity* dimana obat akan berinteraksi. Parameter yang diukur dalam proses *docking* adalah nilai energi yang terlibat, berupa *MolDock Score*, *Rerank Score*, dan *Hbond*. Untuk mengukur kekuatan ikatan obat-reseptor, parameter yang sering digunakan adalah nilai *Rerank Score* (*Manual Molegro Virtual Docker*, 2013).

4.5.2.4 Prediksi Sifat Fisikokimia dan Toksisitas Senyawa

Prediksi sifat fisikokimia dan toksitas senyawa dengan menggambar struktur molekul 2D dengan program *Chem Bio Draw Ultra* versi 12, kemudian mencari kode SMILES *Heliannuols A, B, C, D* dan *E* dari struktur 2D masing-masing senyawa. Melalui bentuk format SMILES ini, senyawa diidentifikasi menggunakan pkCSM *online tool* (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkesm/prediction>) untuk memprediksi sifat fisikokimia senyawa dan mendapatkan parameter untuk diklasifikasikan ke dalam Hukum Lima Lipinski. Serta untuk memprediksi toksitas (LD_{50}) per oral pada *rodent* yang didasarkan pada *Globally Harmonized System* (GHS) digunakan aplikasi *Ptotox II online tool* dan parameter toksitas senyawa lainnya seperti *skin sensitization*, *Ames toxicity*, *Hepatotoxicity* didapatkan melalui aplikasi *pkCSM online tool*.

4.6 Analisa Data

Analisa data dari hasil *docking* dengan diketahui nilai RMSD, *Rerank score*, ikatan hidrogen, ikatan sterik, jarak ikatan, berat molekul, logaritma koefisien partisi oktanol/air (Log P), jumlah ikatan antar atom yang dapat berotasi (*Torsion*), *Hydrogen Bond Acceptors* (HBA), *Hydrogen Bond Donors* (HBD), *Topological Polar Surface Area* (TPSA), LD_{50} , dan ADME. Maka dapat memprediksi sifat fisikokimia senyawa *Heliannuol A, B, C, D* dan *E* pada tanaman bunga matahari (*Helianthus annuus L.*) dengan terpenuhi hukum lima Lipinski. Analisis data sifat fisika kimia dilakukan dengan mengetahui berat molekul, log koefisien oktanol/air (Log P), jumlah gugus OH dan NH, serta

jumlah atom O dan N. Analisis data toksisitas senyawa *He.liannuo.l* A, B, C, D dan E berdasarkan LD₅₀ yang dapat diketahui dengan menggunakan *pkCSM online tool*. Hasil dari analisa data akan disajikan dalam bentuk tabel.



BAB VI

PENUTUP

6.1 KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian Studi *In Silico* Senyawa *Heliannuol A, B, C, D, dan E* Pada Tanaman Bunga Matahari (*Helianthus annuus L.*) Terhadap *Estrogen Receptor β (ERβ) (2I0G)* dapat ditarik kesimpulan diantaranya adalah:

1. Senyawa *Heliannuol A, B, C, D, dan E* diprediksi memiliki sifat fisikokimia yang baik dengan terpenuhinya hukum lima Lipinski
2. Senyawa *Heliannuol E* memiliki interaksi paling baik terhadap reseptor estrogen β dibandingkan *Heliannuol A, B, C, dan D*, namun masih lebih rendah dibandingkan dengan Erteberel.
3. Menurut *Globally Harmonized System (GHS)*, senyawa *heliannuol A, B, C, dan E* diprediksi tergolong dalam kelas 4, sedangkan *Heliannuol E* tergolong dalam kelas toksisitas 5.

6.2 SARAN

Berdasarkan penelitian Studi *In Silico* Senyawa *Heliannuol A, B, C, D, dan E* Pada Tanaman Bunga Matahari (*Helianthus annuus L.*) Terhadap *Estrogen Receptor β (ERβ) (2I0G)*, peneliti memberikan saran bagi peneliti selanjutnya untuk mencoba melakukan *docking* antara senyawa *Heliannuols* dengan reseptor lain yang mempunyai aktivitas berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Aidh, Al-Qarni. 2008. *Tafsir Muyassar*. Jakarta: Qisthi Pres
- Allinger N. L. 2010. *Molecular Structure Understanding Steric and Electronic Efect from Molecular Mechanics*. Hoboken: John Wilwy and Sons, Inc.
- Al-Jumaily R. M., Al-Shamma N. M. J., Al-Halbosiy Mohammed M. F., Al-Shamma Laith M. J. 2013. "Anticancer Activity of Sunflower (*Helianthus annuns* L.) Seeds oil Against Cell Lines". *Iraqi Journal of Science*. Volume 54.
- Al-Mahalli, Imam. 2007. .Jalaluddin dan as-Suyuti. *Tafsir Jalalain*. Terj. Bahrun Abubakar. Bandung: Sinar Baru Algensindo.
- Amalina, N. 2008. Uji Sitotoksik Ekstrak Etanol 70% Buah Merica Hitam (*Piper nigrum* L.) terhadap Sel HeLa. [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- [ACS] American Cancer Society. 2014. Cancer Facts and Figures. *CA: A Cancer Journals of Clinicians. Volume 63, Nomor 1*.
- [ACS] American Cancer Society. 2016. HPV vaccine. Available from: <http://www.cancer.org/cancer/cervicalcancer/causes-risks-prevention/risk-factors.html>. [cited 2019 October].
- Andrade, R. J., Robles, M., Castener, A. F., Ortega, S. L., Vega, M. C. L., Lucena, M. I. 2007. Assessment of Drug-Induced Hepatotoxicity in Clinical Practice: A Challenge for Gastroenterologist. *World Jornal of Gastroenterol*. Volume 13, Nomor 3: 329-340.
- Ariani, S. 2015. *Stop Kanker*. Yogyakarta: Istana Media.
- Artursson, P. 1990. Epithelial Transport of Drugs in Cell Culture I: A Model for Studying The Passive Diffusion of Drugs Over Intestinal Absorptive (Caco-2) Cells. *J. Pharm. Sci.* Volume 79:476-482.
- Artursson, P. and Karlsson, J. 1991. Correlation Between Oral Drug Absorption in Humans and Apparent Drug Permeability Coefficients in Human Intestinal Epithelial (Caco-2) Cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* Volume 175: 880-885.
- Awad A. B., Chinnam M., Fink C. S., Bradford P. G. 2007. Beta-Sitosterol Activates Fas Signaling in Human Breast Cancer Cells. *Phytomedicine*. Volume 14, Nomor 11.
- Banerjee, Priyanka, Andreas O. Eckert, Anna K. Schrey and Robert Preissner. 2018. ProTox-II: A Webserver for The Prediction of Toxicity of Chemicals. *Nucleic Acids Research*.
- Bansal, Tripta, Manu Jaggi, Roop K. Khar and Sushama Talegaonkar. 2009. Emerging Significance of Flavonoids As P-Glycoprotein Inhibitors in Cancer Chemotherapy. *Journal Pharm Pharmaceut Sci.* Volume 12, Nomor 1.
- Barlow, D. J., Buriani, A., Ehrman, T., Bosisio, E., Eberini., Hylands, P. J. 2012. In-silico Studies in Chinese Herbal Medicines' Research: Evaluation of in silico Methodologies and Phytochemical Data Sources, and a Review of Research to Date. *Journal of Ethnopharmacology*. Volume 140: 256-534.

- Berman, Helen M., Tammy Battistuz, T. N. Bhat, Wolfgang F. Bluhm, Philip E. Bourne, Kyle Burkhardt, Zukang Feng, Gary L. Gilliland, Lisa Iype, Shri Jain, Phoebe Fagan, Jessica Marvin, David Padilla, Veerasamy Ravichandran, Bohdan Schneider, Narmada Thanki, Helge Weissig, John D. Westbrook and Christine Zardeckia. 2002. *The Protein Data Bank. Biological Crystallography*. 899-907.
- Beshay V. E. and Bruce R. 2013. *Hypothalamic Pituitary Ovarian Axis and Control of the Menstrual Cycle, Clinical Reproductive Medicine and Surgery: A Practical Guide*. New York: Springer Science.
- [CRUK] Cancer Research United Kingdom. 2017. Secondary Brain Tumor Available from: <https://www.cancerresearchuk.org/>. [cited 2019 October].
- Carroll R. S., Zhang J., Dashner K., Sar M., Black P. M. 1995. Steroid hormone receptors in astrocytic neoplasms. *Neurosurgery*. Volume 37: 496-503.
- Castro, M. G., Cowen, R., Williamson, I. K. 2003. Current and Future Strategies for the Treatment of Malignant Brain Tumors. *Elsevier science inc.*
- Ceccarini. 2004. Essential Oil Composition of *Helianthus annus* L. Leaves and Heads of Two Cultivated Hybrids “Carlos and Florom 350”. *Industrial Crops and Products*.
- Chakraborty, Proma and Mani Ramakrishnan. 2016. Role of P-Glycoprotein in Chemotherapeutic Drug Resistance and Mechanisms of Pump Deactivation to Overcome MDR in Cancer Cell-A Critical Review. *Frontiers in Biomedical Science*. Vol. 1(2).
- Chan, H.K., and Ismail, S. 2014. Side Effects of Chemotherapy among Cancer Patients in A Malaysian General Hospital: Experiences, Perceptions and Informational Needs from Clinical Pharmacists. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. Volume 15, Nomor 13.
- Chander, S., Tang, C. R., Al-Maqtari, H. M., Jamalis J., Penta, A., Hadda, T. B., Sirat, H. M., Zheng, Y. T., Sankaranarayanan, M. 2017. Synthesis and Study of Anti-HIV-1 RT Activity o 5-Benzoyl-4Methyl-1,3,4,5-Tetrahydro-2h-1,5-Benzodiazepin-3-One Derivates. *Bioorg Chem*. Volume 72: 74-79.
- Chang E. C., Frasor J., Komm B., Katzenellenbogen B. S. 2006. Impact of Estrogen Receptor Beta on Gene Networks Regulated by Estrogen Receptor Alpha in Breast Cancer Cells. *Endocrinology*. Volume 147: 4831–4842.
- [CLCbio]. 2013. *Manual Molegro Virtual Docker User Manual, MVD 2013. 6.0 for Windows, Linu, and Mac OS X*, Molegro A CLC bio company.
- Cornwell, M. M. 1991. Molecular Biology of P-Glycoprotein. *Cancer Treatment and Research*. Volume 57: 37-56.
- Craig M. A., Beppler G. A., Santos C., Raffa R. B. 2005. A second (Non Genomic) Steroid Mechanism of Action: Possible Opportunity for Novel Pharmacotherapy. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*. Volume 30: 305-312.
- Djalil, Asmiyenti D., Kartasa smita, R. E. Surantaatmaja, S. I., and D. H., Tjahjono. 2012. Toxicity Prediction of Photosensitizer Bearing Carboxylic

- Acid Groups by ECOSAR and TOXTREE. *Journal of Pharmacology and Toxicology*. Volume 7, Nomor 5: 219-230.
- Donatus, I.A. 2005. *Toksikologi Dasar*, Edisi 2. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Dwivedi, A. and G. N. Sharma. 2014. A Review on Heliotropism Plant: *Helianthus annuus L.* *The Journal of Phytopharmacology*. Volume 3, Nomor 2: 149-155.
- Ekins, S., Mestres, J. and Testa, B. 2007. In Silico Pharmacology for Drug Discovery: Methods for Virtual Ligand Screening and Profiling. *British Journal of Pharmacology*. Volume 152: 9-20.
- El-Din, Hanaa M. Alam, Samah A. Loutfy, Nasra Fathy, Mostafa H. Elberry, Ahmed M. Mayla, Sara Kassem, Asif Naqvi. 2016. Molecular Docking Based Screening of Compounds Against VP40 Ebola Virus. *Bioinformation*. Volume 12, Nomor 3.
- Ferdinand F., Ariebowo M. 2009. *Praktis Belajar Biologi 1*. Jakarta: Pusat Perbukuan Departemen Pendidikan Nasional
- Firman, Mochamad Amrulloh. 2018. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 96% Daun Bunga Matahari (*Helianthus annuus L.*) Terhadap Apoptosis, Siklus Sel, dan Ekspresi P53 Pada Sel Kanker Serviks *HeLa*. [Skripsi]. Malang: Fakultas Farmasi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Fitriasari, A., N. K. Wijayanti, N. Ismiyati, D. Dewi. W. Kundarto, B. S. A. Sudarmanto, dan E. Meiyanto. 2008. Studi Potensi Kurkumin dan Analognya sebagai Selective Estrogen Receptor Modulator (SERMs): Docking pada Reseptor Estrogen β . *Pharmacon*. Volume 9: 27-32.
- Ghantous, A. 2010. What Made Sesquiterpene Lactones Reach Cancer Clinical Trials? A Review. *Elsevier Drug Discovery Today*. Volume 15, Nomor 15: 668-678.
- Goebel, C. P. Aeby, and N. Ade. 2012. *Guiding Principles for The Implementation of Non-Animal Safety Assessment Approaches for Cosmetics: Skin Sensitisation*. *Regul Toxicol. Pharmacol.* Volume 63: 40–52.
- Hanahan, D. and Robert A. W. 2011. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*. Volume 144, Nomor 5: 646-74.
- Hanwell, Marcus D., Donald E. Curtls, David C. Lonie, Tim Vandermeersch, Eva urek, and Geoffrey R. Hutchison. 2012. Avogadro: An Advanced Semantic Chemical Editor, Visualization, and Analysis Platform. *Journal of Cheminformatics*. Nomor 4: 17.
- Hardjono, S. 2012. *Modifikasi Struktur 1-(Benzoiloksi)Urea dan Hubungan Kuantitatif Struktur Aktivitas Sitotoksiknya*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Hardjono, S. 2016. Prediksi Sifat Farmakokinetik, Toksisitas dan Aktivitas Sitotoksik Turunan *N-Benzoyl-N'-(4-fluorofenil)tiourea* sebagai Calon Obat Antikanker melalui Pemodelan Molekul. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Volume 14, Nomor 2: 246-255.
- Hardjono, Suko, Siswandono, and Rina Andayani. 2017. Evaluation of N-benzoylthiourea Derivatives As Possible Analgesic Agents by Predicting

- Their Physicochemical and Pharmacokinetic Properties, Toxicity, and Analgesic Activity. *Indonesian Journal of Biotechnology*. Volume 22, Nomor 2.
- Hartman J., Edvardsson K., Lindberg K., Zhao C., Williams C., Strom A., Gustafsson J. A. 2009. Tumor Repressive Functions of Estrogen Receptor β in SW480 Colon Cancer Cells. *Cancer Res.* Volume 69: 6100–6106.
- Hefron, T. P., Wei, B., Olivero, A., Staben, S. T., Tsui, V., Do, S., Dotson, J., Folkes, A. J., Goldsmith, P., Goldsmith, R., Gunzner, J., Lewis, C., Mathieu, S., Nonomiya, J., Shuttleworth, S., Sutherlin, D. P., Wan, N. C., Wang, S., Wiesmann, C., Zhu, B. Y. 2011. Rational Design of Phosphoinositide 3-Kinase A Inhibitors That Exhibit Selectivity Over the Phosphoinositide 3-Kinase B Isoform. *J. Med. Chem.* Volume 54: 7815–7833.
- Hidalgo, I. J., Raus, T. J., and Borchardt, R. T. 1989. Characterization of The Human Colon Carcinoma Cell Line (Caco-2) as A Model System for Intestinal Epithelial Permeability. *Gastroenterology*. Volume 96: 736-749.
- Hodgson E. and Levi P. E. 2000. *A Textbook of Modern Toxicology*. New York: McGraw-Hill Companies, Inc.
- Hrycay E. G., Bandiera S. M. 2015. Monooxygenase, Peroxidase and Peroxygenase Propeties and Reaction Mechanisms of Cytochrome P450 Enzymes. *Adv Exp Med Biol.* Volume 851: 1-61.
- Hughes, R.G. 2008. *Patient Safety and Quality: an Evidence Base Handbook for Nurses*. Rochville MD: Agency for Healthcare Research and Quality Publication.
- Ibrahim T. A., Ajongbolo K. F. and Aladekoyi G. 2014. Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of Crude Extracts of *Basella alba* and *Helianthus annuus* on Selected Food Pathogens. *RRJMB*. Volume 3, Nomor 2.
- Irlbacher, K., Brandt, S. H., and Meyer, B. U. 2002. In Vivo Study Indicating Loss of Intracortical Inhibition in Tumours-Associated Epilepsy. *Ann Neurol*, Volume 52, Nomor 1:119.
- Jensen F. 2007. *Introduction to Computational Chemistry* 2nd ed. New York: John Willey and Sons Ltd.
- Kamal, Javed. 2011. Quantification of Alkaloids, Phenols, and Flavonoids in Sun Flower (*Helianthus annuus* L.). *African Journal of Biotechnology*. Volume 10, Nomor 16: 3149-3151.
- Kapadia G. J., Azuine M. A., Tokuda H., Takasaki M., Mukainaka T., Konoshima T. 2002. Chemopreventive Effect of Resveratrol, Sesamol, Sesame Oil and Sunflower Oil in the Epstein-Barr Virus Early Antigen Activation Assay and the Mouse Skin Two-Stage Carcinogenesis. *Pharmacol Res.* Volume 45, Nomor 6.
- Karsono, B. 2006. *Teknik-Teknik Biologi Molekular Dan Selular Pada Kanker. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*, Edisi Ketiga. Jakarta: Pusat Penerbit Departemen Penyakit Dalam FKUI.

- Katno dan S. Pramono. 2010. *Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat dan Obat Tradisional*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Gajah Mada.
- Kelder, J., Grootenhuis, D. J. P., Bayada, D. M., Delbressine, P. C. L., Ploemen, J. P. 1999. Polar Molecular Surface as A Dominating Determinant for Oral Absorption and Brain Penetration of Drugs. *Pharmaceutical Research*. Volume 16, Nomor 10.
- [Kemenkes] Kementrian Kesehatan. 2019. *Rencana Strategis Kementerian Kesehatan Tahun 2015-2019*. Jakarta: Kementerian Kesehatan RI.
- Kesuma, D., Siswandon, Purwanto, B. T. dan Hardjon S. 2018. Uji *In Silico* Aktivitas Sitotoksik dan Toksisitas Senyawa Turunan N-(Benzoil)-N'-Feniltiourea Sebagai Calon Obat Antikanker. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*. Volume 1.
- Khazanov, N. A. and Carlson, H. A. 2013. Exploring The Composition of Protein-Ligand Binding Sites on A Large Scale. *Plos Comput Biol*. Volume 9, Nomor 11.
- Koepsell, Hermann. 2004. Polyspecific Organic Cation Transporters: Their Functions and Interactions with Drugs. *TRENDS in Pharmacological Sciences*. Volume 25, Nomor 7.
- Koepsell, Hermann. 2015. Role of Organic Cation Transporters in Drug-Drug Interaction. *Expert Opin, Drug Metab, Toxicol*. Volume 11, Nomor 10.
- Kreuger, M. R. O. 2012. Sesquiterpene Lactones as Drug with Multiple Targets in Cancer Treatment: Ocus on Parthenolide. *Anti-Cancer Drugs*.
- Kumar, Gupta Praveen, Agrawal Pushpa, Shivakumar Neeta and Hiremath Suhasini B. 2011. *In Silico* Modelling and Drug Design-A Review. *International Research Journal of Pharmacy*. Volume 2. Nomor 9.
- Kuntala, Naveen, Jhonsee R. Telu, Jaya S. Anireddy and Sarbani Pal. 2017. A Brief Overview on Chemistry and Biology of Benzoxepine. *Letters in Drug Design and Discovery*. Volume 14: 1-13.
- Lajnah Pentashhiah Al-Qur'an. 2009. *Tafsir Al-Qur'an Tematik: Kesehatan dalam Perspektif Al-Quran*. Jakarta: Lajnah pentashihah Al-Qur'an.
- Leung Y. K., Mak P., Hassan S., Ho S. M. 2006. Estrogen Receptor (ER)-Beta Isoforms: A Key to Understanding ER-beta Signaling. *Proc Nat Acad Sci USA*. Volume 103: 13162–13167.
- Li W., Winters A., Poteet E., Ryou M. G., Lin S. 2013. Involvement of Estrogen Receptor in the Progression of Glioma. *Brain Res*. Volume 1503: 97-107.
- Lindholm, P. 2005. *Cytotoxic Compounds of Plant Origin-Biological and Chemical Diversity*. Sweden: Uppsala University.
- Lipinski, C.A., Lombardo, F., Dominy, B.W., dan Feeney, P.J. 2001. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Advanced Drug Delivery Reviews*. Volume 46: 3-26.
- Lipinski, C. A. 2004. Drug Discovery. *Today Technologie*. Volume 1, Nomor 4: 337-341.

- Lomovskaya O. and Bostian K. A. 2006. Practical Applications and Feasibility of Efflux Pump Inhibitors in The Clinic-A Vision for Applied Use. *Biochem Pharmacol.* Volume 71, Nomor 7.
- Lomovskaya O., Zgurskaya H. I., Totrov M., Watkins W. J. 2007. Waltzing Transporters and ‘The Dance Macabre’ between Humans and Bacteria. *Nat Rev Drug Discov.* Volume 6, Nomor 1.
- Macias, Francisco A., Jose M. G. Molinillo, Rosa M. Varela, and Ascension Torres. 1994. Structural Eludation and Chemistry of A Novel Family of Bioactive Sesquiterpenes: Heliannuols. *J. Org. Chem.* Volume 59: 8261-8266.
- Macias, Francisco A., Rosa M. Varela, Ascension Torres, and Jose M. G. Molinillo. 2000. Potential Allelopathic Activity o Natural Plant Heliannes: A Proposal of Absolute Coniguration and Nomeclature. *Journal of Chemical Encology.* Volume 26, Nomor 9.
- Macias, Francisco A., Ascension Torres, Jose L. G. Galindo, Rosa M. Varela, Jose A. Alvarez, Jose M. G. Molinillo. 2002. Bioactive Terpenoids from Sunflower Leaves cv. Peredovick. *Phytochemistry.* Volume 61: 687-692.
- Macías FA, López A, Varela RM, Torres A, Molinillo JM. 2008. Helikauranoside A, A New Bioactive Diterpene. *J Chem Ecol*, Volume 34: 65-69.
- Maramis, W. F. 2005. *Catatan Ilmu Kedokteran Jiwa*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Marin D. P. 2003. *NNK International*, Belgrade, cit in Matejic J., Sarac Z. and Ranelovic V. 2010. Pharmacological Activity of Sesquiterpene Lactones. *Biotechnology and Biotechnological Equipment.* Volume 24: 21–23.
- Markham, K. R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid* diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB.
- Martin, Y. C. 2005. A Bioavailability Score. *Journal of Medicinal Chemistry.* Volume 48, Nomor 9.
- Martins A., Vasas A., Schelz Z. 2010. Constituents of Carpobrotus Edulis Inhibit P-Glycoprotein of MDR1-Transected Mouse Lymphoma Cells. *Anticancer Res.* Volume 30, Nomor 3.
- Maskhlahah, Fitrotun Nasikhatul. 2015. *Metabolite Profiling* Bagian Akar, Batang, Daun, dan Biji *Helianthus annuus* L. Menggunakan Instrumen UPLC-MS. [Skripsi]. Malang: Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- McPherson S. J., Hussain S., Balanathan P., Hedwards S. L., Niranjan B., Grant M., Chandrasir U. P., Toivanen R., Wang Y., Taylor R. A., Risbridger G. P. 2010. Estrogen Receptor- β Activated Apoptosis in Benign Hyperplasia and Cancer of the Prostate is Androgen Independent and TNF α Mediated. *Proc Natl Acad Sci.* Volume 107: 3123–3128.
- [MVD] Molegro Virtual Docker 5.0. 2011. Molegro Virtual Docker User Manual. Available from: http://clcbio.com/wp-content/uploads/2012/09/MVD_Manual.pdf. [cited 2019 October].
- [MVD] Molegro Virtual Docker 6.0. 2013. *Molegro Virtual Docker User Manual*. America: CLC Bio Company.

- Muchtaridi, M., Dermawan, D., Yusuf, M. 2018. Molecular Docking, 3D Structure-Based Pharmacophore Modeling and ADME Prediction of Alpha Mangostin and its Derivatives Against Estrogen Receptor Alpha. *J. Young Pharm.* Volume 10, Nomor 3.
- Muchtaridi., A. Yanuar, S. Megantara dan H, purnomo. 2018. *Kimia medisinal: Dasar Dasar dalam Perancangan Obat* Edisi pertama. Jakarta: Prenada Media Group.
- Mulyani, N.S, dan Nuryani. 2013. *Waspadai 4 Kanker Ganas Pembunuhan Wanita*. Yogyakarta: Nuha Medika.
- Mutia. 2007. Teknologi dalam Al-Quran. *Islam Future*. Vol. 6. No. 2.
- [NCI] National Cancer Institute. 2015. Sign and Symptomps of Lung Cancer. Available from: <http://www.cancer.gov/types/lung>. [cited 2019 October].
- [NCI] National Cancer Institute. 2016. Understanding Cancer Series, NIH Public Access. Available from: <http://www.cancer.gov>. [cited 2020 October].
- Nies A. T., Koepsell H., Damme K., Schwab M. 2010. Organic Cation Transporters (OCTs, MATEs), In Vitro and In Vivo Evidence for The Importance in Drug Therapy. *Handb Exp Pharmacol.* Volume 201: 105-67.
- Nilsson S., Koehler K. F., Gustafsson J. A. 2011. Development of Subtype-Selective Oestrogen Receptor-Based Therapeutics. *Nat Rev Drug Discov.* Volume 10: 778-792.
- Nilsson S. and Gustafsson J. A. 2011. Estrogen Receptors: Therapies Targeted to Receptor Subtypes. *J. Clin Pharmacol Ther.* Volume 89, Nomor 1: 44-55.
- Norman, Bryan H., Jeffrey A. D., Timothy I. R., Peter S. B., Charles W. L., Scott A. J., Keyue Chen, Yong Wang, Gregory L. D., Robert J. B., Chahrzad Montrose Rafizadeh, Harold E. O., Robert M. A., Sherry Guo, Amechand Boodhoo, and Venkatesh Krishman. 2006. Benzopyrans Are Selective Estrogen Receptor β Agonist with Novel Activity in Models of Benign Prostatic Hyperplasia. *J. Med. Chem.* Volume 49: 6155-6157.
- Nurwati, S., dan Prasetya, R. I. 2014. Kajian Medis Pemanfaatan Teknologi Nuklir BNCT Untuk Tumor Otak Jenis Glioma. Volume 6.
- O'Donoghue, M., and Tharp, M.D. 2005. Antihistamines and Their Role as Antipruritics. *Dhermatologic Therapy*. Volume 18.
- Ohgaki, H. and Kleihues P. 2005. Epidemiology and etiology of gliomas. *Acta Neuropathol.* Volume 109: 93.
- Ohgaki, Hiroko and Paul Kleihues. 2009. Genetic Alterations and Signaling Pathways in the Evolution of Gliomas. *Journal of Japanese Cancer Association*. Volume 100, Nomor 12: 2235-2241.
- Omuro A. and DeAngelis LM. 2013. Glioblastoma and Other Malignant Gliomas: A Clinical Review. *J Am Med Assoc.* Volume 310: 1842–50.
- Oxtoby, David. 2001. *Prinsip Kimia Modern*. Jakarta: Erlangga.
- Pelkonen, O., Turpeinen, M., dan Raunio, H. 2011. In Vivo, In Vitro, In Silico Pharmacokinetic Modelling in Drug Development. *Clinical Pharmakokinetics*. Volume 50, Nomor 8.
- Perry, A. and Wesseling, P. 2016. *Histologic classification of gliomas, Handbook of Clinical Neurology*. Volume 134: 71–95.

- Pinton G., Thomas W., Bellini P., Manente A. G., Favoni R. E., Harvey B. J., Mutti L., Moro L. 2010. Estrogen Receptor β Exerts Tumor Repressive Functions in Human Malignant Pleural Mesothelioma Via EGFR Inactivation and Affects Response to Gefitinib. *PLoS One*. Volume 5: e14110.
- Pires, Douglas E. V., Tom L. Blundell, and David B. Ascher. 2015. pkCSM: Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures. *Journal of Medicinal Chemistry*. Volume 58: 4066-4072.
- [pkCSM]. Theory-How to interpret pkCSM results [Internet]. 2020 [cited 2020 January]. Available from: <http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsdm/theory>.
- Pointer, K. B., Clark, P. A., Zorniak, M., Alrfaei, B. M., and Kuo, J. S. 2014. Glioblastoma Cancer Stem Cells: Biomarker and Therapeutic Advances. *Neurochemistry International*. Volume 71, Nomor 1.
- Preissner S. C., Hoffmann M. F., Preissner R., Dunkel M., Gewiess A. 2013. Polymorphic Cytochrome P450 Enzymes (CYPs) and Their Role in Personalized Therapy. *Plos ONE*. Volume 8, Nomor 12.
- Pujiastuti, M. W. dan Sanjaya, I. G. M. 2017. Penentuan Aktivitas Senyawa Turunan Mangiferin Sebagai Antidiabetes Pada Diabetes Mellitus Tipe 2 Secara in Silico Determination of Mangiferin Derived Compounds as Antidiabetic for Type 2 Diabetes Mellitus With in Silico. *UNESA Journal of Chemistry*. Volume 6, Nomor 3: 172-176.
- Purba, Michael. 2007. *Kimia Untuk SMA Kelas XI*. Jakarta: Erlanga
- Putra, Cahya S, Rachmatika M. B dan Sudarmanto B.W. 2008. Kurkumin dan Analognya sebagai selective estrogen reseptor modulators (SERMS): kajian berdasarkan metode docking pada reseptor estrogen alfa. *Pharmacon*. Volume 9, Nomor 1: 7-9.
- Ren W., Qiao Z., Wang H., Zhu L., Zhang L. 2003. Flavonoids. *Promising Anticancer*. Volume 34, Nomor 23: 345-9.
- Rettberg, J. R., Yao, J., Brinton, R. D. 2013. Estrogen: A Master Regulator of Bioenergetic Systems in the Brain and Body. *Frontiers in Neuroendocrinology*. Volume 35: 8-30.
- [Riskesdas] Riset Kesehatan Dasar. 2018. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian RI tahun 2018. Diakses dari: http://www.depkes.go.id/resources/download/infoterkini/materi_rakorpop_2018/Hasil%20Ris kesdas%202018.pdf. [Diambil Oktober 2019].
- Riswiyanto. 2015. *Kimia Organik*, Edisi II. Jakarta: Erlangga.
- Ruswanto. 2015. Molekular docking empat turunan isonicotinohydrazide pada *Mycobacterium tuberculosis* enoyl-acyl carrier reductase (InhA). *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*. Volume 13: 213–227.
- Robert J. and Jarry C. 2003. Multidrug Resistance Reversal Agents. *Journal Med Chem*. Volume 46, Nomor 23.
- Saini S. and Sharma S. 2011. *Helianthus Annuus* (Asteraceae): A Review. *International Journal of Pharma Professional's Research*. Volume 2, Nomor 4.

- Santagati S., Melcangi R. C., Celotti F., Martini L., Maggi A. 1994. Estrogen Receptor is Expressed in Different Types of Glial Cells in Culture. *Journal Neurochem.* Volume 63: 2058-2064.
- Santoso, B. 2019. In Silico Study of Weight-Selected Molecules of *Sea Cucumber* as Antimitotic Using PyRx-Vina Program. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology.*
- Sareddy, Gangadhara R., Binoj C. Nair, Vijay K. Gonungunta, Quan-guang Zhang, Andrew Brenner, Darrell W. Brann, Rajeshwar Rao Tekmal, and Ratna K. Vadlamudi. 2012. Therapeutic Significance of Estrogen Receptor β Agonists in Glioma. *American Association for Cancer Research.* Volume 11, Nomor 5.
- Sareddy, Gangadhara R. and Ratna K. Vadlamudi. 2015. Emerging Significance of Estrogen Receptor β in Gliomas. *Journal of Cancer Science and Therapy.* Volume 5, Nomor 4.
- Sareddy, Gangadhara R., Xiaonan Li, Jinyou Liu, Suryavathi Viswanadhapalli, Lauren Garcia, Aleksandra Gruslova, David Cavazos, Mike Garcia, Anders M. Strom, Jan-Ake Gustafsson, Rajeshwa Rao Tekmal, Andrew Brenner and Ratna K. Vadlamudi. 2016. Selective Estrogen Receptor β Agonist LY500307 as a Novel Therapeutic Agent for Gliolastoma. *Scientific Report.* Volume 6: 24185.
- Schlick, T. 2010. *Molecular Modeling and Simulation, A Interdisciplinary Guide* 2 ed. New York: Springer Science and Business Media.
- Schophuizen C. M., Wilmer M. J., Jansen J. 2013. Cationic Uremic Toxins Affect Human Renal Proximal Tubule Cell Functioning Through Interaction with The Organic Cation Transporter. *Pflugers Arch.* Volume 465: 1701-14.
- Schwartzbaum J. A., Fisher J. L., Aldape K. D., Wrensch M. 2006. Epidemiology and Molecular Pathology of Glioma. *Nature Clinical Practice Neurology.* Volume 2: 494-503.
- Sharom F. J. 1997. The P-Glycoprotein Efflux Pump: How Does It Transport Drugs?. *Journal Membr Biol.* Volume 160, Nomor 3.
- Sharom F. J. 2011. The P-Glycoprotein Multidrug Transporter. *Essays Biochem.* Volume 50, Nomor 1.
- Siegel, R. L., Miller, K. D., and Jemal, A. 2016. Cancer statistics. *CA Cancer J Clin.* Volume 66, Nomor 1.
- Siswandono dan Soekardjo, B. 1995. *Kimia Medisinal.* Surabaya: Airlangga University Press.
- Siswandono dan Soekardjo, B. 2000. *Kimia Medisinal*, Edisi 2. Surabaya: Airlangga University Press.
- Siswandono. 2011. Studi Pemodelan Molekul Interaksi Beberapa Turunan Penisilin dengan Reseptor DD-Transpeptidase dari *Streptomyces R61(1PWC)*. *Airlangga journal of Pharmacy.* Volume 9, Nomor 2: 33-41.
- Siswandono, 2016. *Kimia Medisinal 1*, Edisi Kedua. Surabaya: Airlangga University Press.
- Spring, O., Albert, K., Gradmann, W. 1981. Annuithrin, A New Biologically Active Germacranolide from *Helianthus annuus*. *Phytochemistry.* Volume 20, Nomor 8: 1883-1885.

- Srivalli K. M. R. and Lakshmi P. K. 2012. Overview of P-Glycoprotein Inhibitors: A Rational Outlook. *Braz J Pharm Sci.* Volume 48, Nomor 3.
- Subashini, R. and Rakshitha, S. 2012. Phytochemical Screening, Antimicrobial Activity and in Vitro Antioxidant Investigation of Mentholic Extract of Seed from *Helianthus annuus*. *Chemical Science Review and Letter.* Volume 1, Nomor 1: 30-34.
- Supandi, Yeni, Merdekawati F. 2018. In Silico Study o Pyrazolylaminoquinazoline Toxicity by Lazar, Protoxx, and Admet Predictor. *Journal of Applied Pharmaceutical Science.* Volume 8, Nomor 9.
- Supriya, T., M. Shankar, S. Kavya Lalitha, J. Dastgiri, M. Niranjan Babu. 2016. A Over View on Molecular Docking. *American Journal of Biological and Pharmaceutical Research.* Volume 3, Nomor 2: 83-89.
- Syamsul, Eka Siswanto, Desy Nur Indah Sari, Supomo. 2015. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Kerehau (*Callicarpa longifolia* Lam.) Terhadap Mencit Putih. *Jurnal Ilmiah Manuntung.* Volume 1, Nomor 2: 127-132.
- Tang, Y., and Marshall, G. 2011. *Drug Design and Discovery: Virtual Screening for Lead Discovery.* New York: Humana Press.
- Thomas C. and Gustafsson J. A. 2011. The different roles of ER subtypes in cancer biology and therapy. *Nat Rev Cancer.* Volume 11: 597-608.
- Thomsen, R. and M. H. Christensen. 2006. MolDock: A New Technique for High-Accuracy Docking. *Journal Med Chem.* Volume 49: 3315-3321.
- Trott, O., and Olson, A. J. 2010. AutoDock Vina: Improving the Speed and Accuracy of Docking with A New Scoring Function, Efficient Optimization and Multithreading. *Journal of Computational Chemistry.* Volume 31: 455-461.
- Urakami Y., Kimura N., Okuda M., Inui K. I. 2004. Creatinine Transport by Basolateral Organic Cation Transporter hOCT2 in The Human Kidney. *Pharm Res.* Volume 21: 976-81.
- Villa, A., Vegeto, E., Poletti, A., Maggi, A. 2016. Estrogen, Neuroinflammation and Neurodegeneration. *Endocrine Society.*
- Veber, D. F., Johnson, S. R., Cheng, H. Y., Smith, B. R., Ward, K. W., Kopple, K. D. 2002. Molecular Propeties That Influence The Oral Bioavaibility of Drug Candidates. *Journal Med. Chem.* Volume 5, Nomor 12.
- Warner, Margaret, Bo Huang, and Jan-Ake Gustafsson. 2016. Estrogen Receptor β as A Pharmaceutical Target. *Trends in Pharmacological Science.* Volume 20, Nomor 50.
- Wijaya, Karna, Iqmal Tahir, Harnowo. 2003 Studi Mekanisme Migrasi Proton Ganda Pada Struktur Supermolekul Asam Asetat-Air dan Asam Asetat-Ammoniak dengan Metode Ab Initio. *Indonesian Journal of Chemistry.* Volume 3, Nomor 2.
- Young, D. C. 2009. *Computational Drug Design, A Guide for Computational and Medicinal Chemist.* New York: Ohn Wiley and Sons.
- Yu C. P., Ho J. Y., Huang Y. T., Cha T. L., Sun G. H., Yu D. S., Chang F. W., Chen S. P., Hsu R. J. 2013. Estrogen Inhibits Renal Cell Carcinoma Cell

- Progression Through Estrogen Receptor- β Activation. *PLoS One*. Volume 8: e56667.
- Yuwono, T. 2009. *Biologi Molekular*. Jakarta: Erlangga.
- Zaineddin A. K., Buck K., Vrieling A., Heinz J., Flesch-Janys D., Linseisen J. 2012. The association Between Dietary Lignans, Phytoestrogen-Rich Foods, and Fiber Intake and Postmenopausal Breast Cancer Risk: A German Case Control Study. *Nutr Cancer*. Volume 64, Nomor 5.
- Zhang S., Won Y. K., Ong C. N., Shen H. M. 2005. Anti-Cancer Potential of Sesquiterpene Lactones: Bioactivity and Molecular Mechanisms. *Current Medicinal Chemistry AntiCancer Agents*. Volume 5, Nomor 3: 239-249.
- Zullies, I. 2006. *Pengantar Farmakologi Molekuler*. Gadjah Mada University Press.



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

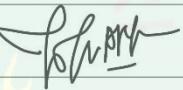
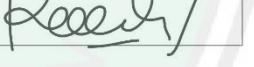
LEMBAR PERSETUJUAN PERBAIKAN (REVISI) UJIAN SKRIPSI

Naskah ujian skripsi yang disusun oleh:

Nama : Hibbatullah
 NIM : 16670036
 Judul : Studi *In Silico* Senyawa *Heliannuol A, B, C, D, E* Pada Tanaman Bunga Matahari (*Helianthus annuus L.*) Terhadap *Estrogen Receptor β (ERβ)* (210G)

Tanggal Sidang Skripsi : 19 Mei 2020

Telah dilakukan perbaikan sesuai dengan saran tim pembimbing dan tim pengujii

No	Nama Dosen	Tanggal Revisi	Tanda Tangan
1	apt. Yen Yen Ari I., M.Farm.Klin.	10 Juni 2020	
2	apt. Abdul Hakim., M.P.I., M.Farm.	7 Juni 2020	
3	apt. Alif Firman F., S.Farm., M.Biomed.	13 Juni 2020	
4	Dr. apt. Roihatul Muti'ah, M.Kes.	12 Juni 2020	

Catatan :

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

Malang,
Mengetahui,
Ketua Jurusan Farmasi


 apt. Abdul Hakim, M.P.I., M.Farm
 NIP. 19761214 200912 1 002



Certificate No: ID08/1219

Kedalaman Spiritual, Keagungan Akhlak, Keluasan Ilmu dan Kematangan Profesional