

**STUDI IN SILICO SENYAWA ANTIKANKER
PADA EKSTRAK ETANOL 96% DAUN
Chrysanthemum cinerariifolium TERHADAP RESEPTOR
Vascular Endothelial Growth Factor (3WZD)**

SKRIPSI

Oleh:
RIDLO RIMBA KUMALA
NIM. 16670020



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

**STUDI IN SILICO SENYAWA ANTIKANKER
PADA EKSTRAK ETANOL 96% DAUN
Chrysanthemum cinerariifolium TERHADAP RESEPTOR
*Vascular Endothelial Growth Factor (3WZD)***

SKRIPSI

Diajukan Kepada:

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

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

**STUDI IN SILICO SENYAWA ANTIKANKER
PADA EKSTRAK ETANOL 96% DAUN
Chrysanthemum cinerariifolium TERHADAP RESEPTOR
*Vascular Endothelial Growth Factor (3WZD)***

SKRIPSI

Oleh:
RIDLO RIMBA KUMALA
NIM. 16670020

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:

Tanggal:

Pembimbing I



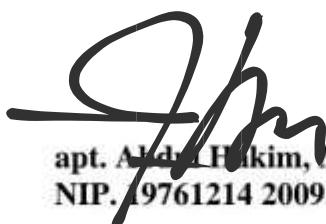
Dr. apt. Roihatul Muti'ah, M.Kes.
NIP. 19800203 200912 2003

Pembimbing II



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

Mengetahui,
Ketua Program Studi Farmasi



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

**STUDI IN SILICO SENYAWA ANTIKANKER
PADA EKSTRAK ETANOL 96% DAUN
Chrysanthemum cinerariifolium TERHADAP RESEPTOR
*Vascular Endothelial Growth Factor (3WZD)***

SKRIPSI

Oleh:

**RIDLO RIMBA KUMALA
NIM. 16670020**

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

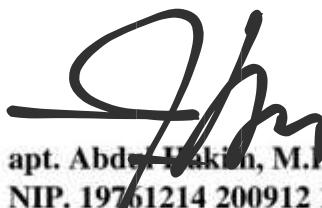
Tanggal:

Ketua Penguji : apt. Yen Yen Ari I., M. Farm. Klin.
NIDT. 19930130 20180201 2 203

Anggota Penguji : apt. Alif Firman F., S.Farm., M. Biomed.
NIP. 19920607 201903 1 017
Dr. apt. Roihatul Muti'ah, M.Kes.
NIP. 19800203 200912 2 003
apt. Hajar Sugihantoro, M.P.H.
NIP. 19851216 201903 1 008



Mengesahkan,
Ketua Program Studi Farmasi


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

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ridlo Rimba Kumala
NIM : 16670020
Program Studi : Farmasi
Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Judul Penelitian : Studi *In Silico* Senyawa Antikanker pada Ekstrak Etanol 96% Daun *Chrysanthemum cinerariifolium* terhadap Reseptor *Vascular Endothelial Growth Factor* (3WZD)

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

Blitar, 15 Mei 2020

Yang membuat pernyataan,



Ridlo Rimba Kumala

NIM. 16670020

MOTTO HIDUP

"Jadilah seperti karang di lautan yang kuat dihantam ombak dan kerjakanlah hal yang bermanfaat untuk diri sendiri dan orang lain, karena hidup hanyalah sekali. Ingat hanya pada Allah apapun dan di manapun kita berada kepada Dia-lah tempat meminta dan memohon."

I'm a rock,

Go ahead and sear me

I won't budge an inch because I'm a rock

Go ahead and beat me up

I'm a solid rock

Go ahead and leave me in the darkness

I'm a rock that will shine all alone

I don't break, ash, nor decay as I go against nature's way

I survive

I'm the diamond

"Try not to be a success human, but try to be a useful human"

(Einstein)

مَنْ خَرَجَ فِي طَلَبِ الْعِلْمِ كَانَ فِي سَبِيلِ اللَّهِ حَتَّىٰ يَرْجِعَ

Artinya : "Barang siapa yang keluar dalam menuntut ilmu maka ia adalah seperti berperang di jalan Allah hingga pulang" (H.R.Tirmidzi)

LEMBAR PERSEMBAHAN

Alhamdulillahirobbil'aalamiin

Syukur kehadirat Allah SWT yang telah memberikan karunia-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan studi dengan baik. Inilah sebuah karya yang saya persembahkan kepada orangtua saya, Ayahanda Alm. Syamsuri walau ayah sudah tidak ada disisi saya lagi, Ibunda tercinta Dewi Masrurin dan Ayah sambung saya Imam Royani yang telah memberikan kasih sayangnya dan doa yang tak pernah putus sehingga saya dapat menempuh program sarjana dengan lancar. Adik saya Ikhlashul Ibad yang telah memberikan doa dan semangatnya untuk saya. Terimakasih kepada Rahmat Wildan Safari Abdi untuk perhatian, dukungan, semangat dan semua yang telah diberikan selama ini. Tanpa ada kalian, saya bukanlah orang yang hebat yang mampu melewati semuanya dengan baik. Saya berharap dan berdoa semoga kita senantiasa diberikan umur dan rizki yang barokah, yang bermanfaat untuk agama dan bangsa, serta dapat berbahagia di dunia dan di akhirat kelak.

Ucapan terimakasih juga ingin saya sampaikan kepada para Dosen serta Karyawan Universitas Islam Negeri Malang, khususnya jurusan Farmasi, karena mereka yang telah mendedikasikan waktunya untuk membimbing dan membentuk karakter insan yang ulul albab. Ucapan terimakasih selanjutnya saya sampaikan kepada pihak-pihak yang telah mendukung jalannya penelitian saya, Ibu Dr. apt. Roihatul Mutiah, M.Kes., dan Ibu apt. Yen Yen Ari Indrawijaya, M.Farm.Klin., sebagai pembimbing yang memberikan arahan dan motivasi agar saya dapat menyelesaikan program sarjana ini dengan tepat waktu. Tak lupa kepada teman-teman proyek *In Silico* UIN Malang 2016 maupun teman *Farmasyifa* yang telah memberikan aura positifnya berupa semangat dan canda tawa selama masa pendidikan ini berlangsung. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan hidayah serta inayah-Nya dan mempermudah jalan kita agar dapat meraih kesuksesan di dunia maupun di akhirat kelak. *Aamiin...*

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum Wr. Wb.

Alhamdulillah selalu terucap kehadiran Allah SWT, yang mana telah melimpahkan karunia-Nya dalam setiap langkah penulis sehingga dapat menyelesaikan studi di Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan serta menyelesaikan tugas akhir berupa skripsi dengan baik. Banyak pihak yang telah berpartisipasi dalam penyelesaian penulisan skripsi, ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Abdul Haris, M.Ag, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Prof. Dr. dr. Yuyun Yueniwati Prabowowati Wadjib, M.Kes., Sp.Rad., selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. apt. Abdul Hakim, M.P.I., M.Farm., selaku ketua program studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dr. apt. Roihatul Mutiah, M.Kes., dan apt. Yen Yen Ari Indrawijaya, M. Farm. Klin. selaku dosen pembimbing skripsi yang telah memberikan banyak pengarahan dan pengalaman berharga.
5. Segenap sivitas akademik program studi Farmasi, terutama seluruh dosen, terimakasih atas segenap ilmu dan bimbingannya.
6. Orang tua tercinta serta adik saya yang selalu memberi kasih sayang, doa nasihat, dan dukungan kepada penulis.
7. Semua pihak yang ikut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa moril maupun materiil.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi ini dan penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat kepada pembaca khususnya dan bagi penulis secara pribadi. *Aamiin...*

Wassalamualaikum Wr. Wb.

Malang, 15 Mei 2020

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	.. i
HALAMAN PENGAJUAN.....	.. ii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	.. iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	.. iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	.. v
MOTTO.....	.. vi
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	.. vii
KATA PENGANTAR viii
DAFTAR ISI ix
DAFTAR TABEL.....	.. xii
DAFTAR GAMBAR.....	.. xiii
DAFTAR LAMPIRAN xiv
DAFTAR SINGKATAN.....	.. xv
ABSTRAK xvi
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	6
1.5 Batasan Masalah.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Pengembangan Ilmu Pengetahuan dalam Perspektif Islam	8
2.2 Tinjauan <i>In Silico</i>	11
2.3 Tinjauan Aplikasi Penunjang.....	13
2.3.1 <i>Protein Data Bank</i>	13
2.3.2 <i>SwissADME</i>	13
2.3.3 <i>Molegro Virtual Docker</i>	14
2.3.4 <i>Protox Online Tool</i>	14
2.4 Interaksi Obat dengan Reseptor.....	15
2.4.1 Hubungan Obat dengan Reseptor.....	15
2.4.2 Ikatan Obat dengan Reseptor.....	16
2.4.2.1 Ikatan Kovalen.....	16
2.4.2.2 Ikatan Ionik.....	17
2.4.2.3 Ikatan Hidrogen.....	17
2.4.2.4 Ikatan <i>Van der Waal's</i>	17
2.5 Tinjauan Krisan.....	18
2.6 Tinjauan Kanker.....	24
2.6.1 Definisi Kanker.....	24
2.6.2 Anti Kanker.....	24
2.6.3 Penggolongan Senyawa Anti Kanker.....	25
2.6.4 Toksisitas Anti Kanker.....	25
2.6.5 Tinjauan Kanker Payudara.....	27
2.6.5.1 Pengertian Kanker Payudara.....	27
2.6.5.2 Faktor Resiko.....	28

2.6.5.3 Patofisiologi Kanker Payudara.....	30
2.6.5.4 Tingkatan Perkembangan Kanker Payudara	31
2.7 Reseptor <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> (VEGF)	32
2.8 Tinjauan Hukum Lima Lipinski.....	36
BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS	
3.1 Kerangka Konsep	38
3.1.1 Bagan Kerangka Konseptual.....	38
3.1.2 Uraian Kerangka Konseptual.....	39
3.2 Hipotesis Penelitian.....	40
BAB IV METODE PENELITIAN	
4.1 Jenis dan Rancangan Penelitian.....	41
4.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	41
4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional.....	41
4.3.1 Variabel Penelitian.....	41
4.3.1.1 Variabel Bebas.....	41
4.3.1.2 Variabel Terikat.....	42
4.3.1.3 Variabel Kontrol.....	42
4.3.2 Definisi Operasional.....	42
4.4 Alat dan Bahan Penelitian.....	43
4.4.1 Alat Penelitian.....	43
4.4.2 Bahan Penelitian.....	43
4.4.2.1 Senyawa Uji Hasil <i>Metabolit Profilling UPLC-QTOF-MS/MS</i> Ekstrak Etanol 96% Daun <i>Chrysanthemum cinerariifolium</i>	43
4.4.2.2 Reseptor <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> (VEGF)	44
4.5 Skema Kerja Penelitian dan Prosedur Penelitian	45
4.5.1 Skema Kerja Penelitian.....	45
4.5.2 Prosedur Penelitian.....	46
4.5.2.1 Preparasi Sampel <i>In Silico</i>	46
4.5.2.2 Penambatan Molekular <i>Docking</i>	46
4.5.2.3 Prediksi Toksisitas Senyawa.....	48
4.6 Analisis Data.....	48
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	
5.1 Skrining dan Prediksi Fisikokimia Senyawa	49
5.2 Hasil Docking dan Analisis Asam Amino.....	63
5.2.1 Preparasi Sampel <i>In Silico</i>	63
5.2.1.1 Pembuatan Struktur 3 Dimensi (3D) dan Penentuan Energi Minimal	64
5.2.1.2 Hasil Preparasi Protein 3WZD	66
5.2.2 Hasil Penentuan Lubang (Cavity) dan Validasi Reseptor VEGF (3WZD)..	67
5.2.3 Hasil Perolehan Docking Score.....	69
5.2.4 Hasil Interaksi Ligan dengan Asam Amino	71
5.3 Prediksi Toksisitas Secara <i>In Silico</i>	77
5.4 Analisis Data Statistik	80
5.4.1 Uji Normalitas	80
5.4.2 Uji Homogenitas	81
5.4.3 Uji Beda Non-parametrik	82
5.5 Integrasi Penelitian dengan Kajian Al-qur'an.....	84

BAB VI PENUTUP

6.1 Simpulan	87
6.2 Saran.....	88
DAFTAR PUSTAKA.....	89

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan Flavonoid <i>Chrysanthemum cinerariifolium</i>	20
Tabel 2.2 Senyawa hasil <i>metabolit profiling</i> UPLC-QTOF-MS/MS ekstrak etanol 96% daun <i>Chrysanthemum cinerariifolium</i>	22
Tabel 2.3 Klasifikasi Reseptor VEGF (3WZD) dalam <i>Protein Data Bank</i>	35
Tabel 5.1 Profil <i>code SMILES</i> dan molekul 10 senyawa yang lulus skrining beserta senyawa pembanding	53
Tabel 5.2 Hasil penentuan sifat fisikokimia dan penerapan Hukum Lima Lipinski terhadap senyawa yang lulus skrining dan Lenvatinib dengan aplikasi SwissADME.....	55
Tabel 5.3 Hasil Prediksi ADME dengan Menggunakan Aplikasi <i>pkCSM Online Tool</i>	57
Tabel 5.4 Struktur 3D dan energi minimal senyawa yang lulus skrining dengan MMFF94 pada aplikasi Avogadro.....	64
Tabel 5.5 Hasil validasi dan nilai RMSD.....	68
Tabel 5.6 Hasil <i>Docking Score</i> senyawa yang lulus skrining dan Lenvatinib terhadap reseptor 3WZD	69
Tabel 5.7 Profil asam amino dan gugus fungsi yang terlibat dalam ikatan hidrogen dan interaksi sterik pada reseptor 3WZD.....	72
Tabel 5.8 Prediksi toksisitas menggunakan <i>Protox online tool</i> dan <i>pkCSM online tool</i>	77
Tabel 5.9 Hasil nilai <i>rerank score</i> Uji Normalitas <i>Shapiro-Wilk</i>	80
Tabel 5.10 Hasil Uji Homogenitas <i>Levene statistic test</i>	81
Tabel 5.11 Hasil Uji Beda <i>Kruskal-Wallis test</i>	82
Tabel 5.12 Hasil Uji <i>Mann Whitney</i>	83

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 <i>Chrysanthemum morifolium</i>	19
Gambar 2.2 Morfologi Tanaman Krisan	20
Gambar 2.3 Respon Imun saat Terserang Kanker Payudara	30
Gambar 2.4 Mekanisme Jalur Pensinyalan Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2.....	34
Gambar 2.5 Struktur 3 dimensi Lenvatinib.....	34
Gambar 2.6 Struktur 2 dimensi Lenvatinib.....	35
Gambar 2.7 Alur kerja aplikasi <i>pkCSM tool</i>	37
Gambar 3.1 Bagan Kerangka Konsep	38
Gambar 4.1 Struktur 3D <i>Vascular Endothelial Growth Factor (3WZD)</i>	44
Gambar 4.2 Skema Kerja Penelitian	45
Gambar 5.1(A) Hasil Skrining Senyawa dengan <i>SwissADME</i>	50
(B) Hasil 10 Senyawa yang Lulus Skrining dengan <i>SwissADME</i>	50
Gambar 5.2 Profil Lenvatinib pada <i>SwissADME</i>	52
Gambar 5.3 Reseptor 3WZD.....	67
Gambar 5.4 (A) Hasil Deteksi Lubang (<i>cavity</i>) pada reseptor 3WZD.....	67
(B) <i>Cavity</i> dan Ligand Native.....	67
Gambar 5.5 (A) Hasil <i>docking</i> senyawa yang lulus skrining terhadap reseptor 3WZD.....	72
(B) Hasil <i>docking</i> senyawa yang lulus skrining terhadap reseptor 3WZD dengan residu asam amino.....	72

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Uji Normalitas <i>Shapiro-Wilk</i>	98
Lampiran 2 Uji Homogenitas	99
Lampiran 3 Uji <i>Kruskal Wallis</i>	99
Lampiran 4 Uji <i>Mann Whitney</i>	99

DAFTAR SINGKATAN

VEGF	: Vascular Endothelial Growth Factor
MVD	: Molegro Virtual Docker
Å	: Amstrong
LD ₅₀	: Lethal Dose 50
BM	: Berat Molekul
HBA	: Hydrogen Bond Acceptors
HBD	: Hydrogen Bond Donors
PSA	: Polar Surface Activity
RMSD	: Root Mean Square Deviation
Log P	: Logaritma Partisi
Torsion	: Jumlah ikatan antar atom yang dapat berotasi
IARC	: International Agency for Research on Cancer
QSAR	: Quantitative Structure-Activity Relationship
RCSB	: Research Collaboratory for Structural Bioinformatics
BBB	: Blood Brain Barrier
GHS	: Globally Harmonized System
PDB	: Protein Data Bank
RTK	: Reseptor Tyrosine Kinase
HER2	: Human Epidermal Growth Factor Receptor 2
VDSS	: Volume Distribusi at Steady State

ABSTRAK

Kumala, R.R. 2020. Studi *In Silico* Senyawa Antikanker pada Ekstrak Etanol 96% Daun *Chrysanthemum cinerariifolium* terhadap Reseptor *Vascular Endothelial Growth Factor* (3WZD). Skripsi. Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Dr. Roihatul Muti'ah M.kes., Apt. ; Pembimbing II: Yen Yen Ari Indrawijaya M.Farm.Klin., Apt.

Chrysanthemum cinerariifolium merupakan salah satu tumbuhan yang memiliki potensi sebagai antikanker karena memiliki kandungan senyawa flavonoid dan terpenoid. Pertumbuhan kanker sering dikaitkan dengan ekspresi berlebihan reseptor *Vascular endothelial growth factor* (VEGF) sebagai jalur proangiogenik untuk meningkatkan tahap angiogenesis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antikanker, toksisitas senyawa dan prediksi sifat fisikokimia senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol 96% daun *Chrysanthemum cinerariifolium*. Senyawa hasil *metabolite profiling* UPLC QToF MS/MS oleh Ayu (2018) dalam ekstrak etanol 96% daun *Chrysanthemum cinerariifolium* dilakukan skrining menggunakan *SwissADME* dengan parameter tidak menembus sawar darah otak, P-gp non substrat, dan memenuhi Hukum Lima Lipinski. Terdapat 10 senyawa yang lulus skrining kemudian dilakukan penambatan molekuler terhadap reseptor VEGF (3WZD) menggunakan *Molegro Virtual Docker* (MVD). Reseptor VEGF (3WZD) dinyatakan valid karena memiliki RMSD < 2Å. Senyawa *azoxystrobin* memiliki aktivitas lebih baik dibanding senyawa yang lain karena memiliki *rerank score* yang paling rendah. *Rerank score azoxystrobin* ialah -85.6977 Kkal/mol. Sedangkan prediksi toksisitas menggunakan aplikasi *protox II online tool* dan *pkCSM online tool*. Kelas toksisitas dari 10 senyawa diantara 35 senyawa hasil *metabolit profiling* UPLC QToF MS/MS oleh Ayu (2018) dalam ekstrak etanol 96% daun *Chrysanthemum cinerariifolium* berdasarkan GHS dan nilai LD₅₀ yaitu kelas 3 (toksik jika tertelan yaitu 50 <LD₅₀ ≤ 300 mg / kg), kelas 4 (berbahaya jika tertelan yaitu 300 <LD₅₀ ≤ 2000 mg / kg) dan kelas 5 (kemungkinan berbahaya jika tertelan yaitu 2000 <LD₅₀ ≤ 5000 mg / kg).

Kata Kunci: *In silico*, *Chrysanthemum cinerariifolium*, VEGF, Antikanker

ABSTRACT

Kumala, R.R. 2020. *In Silico* Study of Anticancer Compounds in 96% Ethanol Extract of *Chrysanthemum cinerariifolium* Leaves against *Vascular Endothelial Growth Factor Receptors* (3WZD). Thesis. Pharmacy Study Program Faculty of Medicine and Health Sciences Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang. Advisor I: Dr. Roihatul Muti'ah M.kes., Apt. ; Advisor II: Yen Yen Ari Indrawijaya M.Farm.Klin., Apt.

Chrysanthemum cinerariifolium is a plant that has potential as an anticancer because it contains flavonoid compounds and terpenoids. Cancer growth is often associated with excessive expression of *Vascular Endothelial Growth Factor* receptor (VEGF) as a proangiogenic pathway to increase the stage of angiogenesis. This study aims to determine anticancer activity, compound toxicity and predictions of physicochemical properties of compounds contained in 96% ethanol extract of *Chrysanthemum cinerariifolium* leaves. The compound produced by UPLC QtoF MS / MS metabolite profilling by Ayu (2018) in 96% ethanol extract of *Chrysanthemum cinerariifolium* leaves was screened using SwissADME with parameters not penetrating the blood brain barrier, P-gp non-substrate, and complying with the Five Lipinski Laws. There are 10 compounds that pass screening then do *molecular docking* to VEGF receptors (3WZD) using *Molegro Virtual Docker* (MVD). VEGF receptors (3WZD) are declared valid because they have an RMSD <2Å. *Azoxystrobin* compound has a better activity than other compounds because it has the lowest *rerank score*. *Rerank score* of *azoxystrobin* is -85.6977 Kcal / mol. Whereas the prediction of toxicity uses the *protox II online tool* and the *pkCSM online tool*. The toxicity class of 10 compounds among 35 compounds produced by UPLC QtoF MS / MS metabolite profilling by Ayu (2018) in 96% ethanol extract of *Chrysanthemum cinerariifolium* leaves based on GHS and LD₅₀ values were class 3 (toxic if ingested i.e 50 <LD₅₀ ≤ 300 mg / kg), class 4 (dangerous if swallowed i.e. 300 <LD₅₀ ≤ 2000 mg / kg) and class 5 (possibly dangerous if swallowed i.e. 2000 <LD₅₀ ≤ 5000 mg / kg).

Keyword : *In silico*, *Chrysanthemum cinerariifolium*, VEGF, Anticancer

مستخلص البحث

كومالا، ر. ر. ٢٠٢٠. الدراسة في السيليكو لمركب مضادة للسرطان في مستخرجة الإيثانول ٩٦ % من ورقة الأقحوان النباتية على مركب VEGFR (Chrysanthemum cinerariifolium) مستقبلة عامل النمو البطاني الوعائي (3WZD). البحث الجامعي. قسم الصيدلة، كلية الطب والعلوم الصحية بجامعة مولاتا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرف الأول : د. رائحة المطعية، الماجستير. المشرف الثاني : بن بن آري إندراوينايا، الماجستير.

الأقحوان النباتية هي إحدى النباتات التي لديها إمكانية مضادة للسرطان لأنها تحتوي على مركب فلافونويد و تريبنويد. غالباً ما يرتبط مع السرطان بالتأثير المفترض لمستقبلة عامل النمو الوعائي (VEGFR) كمسار عروقاوي لزيادة مستوى تولد الأوعية. يهدف هذا البحث إلى تحديد نشاط مضادة للسرطان، وجمة المركبات والتسلق بالخصائص الكيميائية الكيميائية للمركبات الواردة في مستخرجة الإيثانول ٩٦ % من ورقة الأقحوان النباتية. للمركبات الناتجة من مستقبلة تمييز UPLC QToF MS/MS قامت به أبو (٢٠١٨) في مستخرجة الإيثانول ٩٦ % من ورقة الأقحوان النباتية، تم فحصها باستخدام SwissADME مع معلومات عدم انتشار حاجز الدم في الدماغ، P-gp non substrat، والاستفقاء بالقاعدة الخامسة ليسنكي. أتاحت عشرة مركبات تجذير عملية الفحص، ثم أخرى الإختناق الجوي في مستقبلة عامل النمو البطاني الوعائي (3WZD) باستخدام Molegro Virtual Docker (MVD) azoxystrobin . مركب RMSD < 2 Å . مركب azoxystrobin لها نشاط أفضل من المركبات الأخرى لأنها تملك أعلى معدل. ممعدل pkCSM online toolprotox II online tool هو ٦٩٧٧.٨٥ ككال/مول. في حين أن التسلق بالسمية باستخدام تطبيقات tool . تكون قيمة عشرة مركبات بين خمس وثلاثين مركباً الناتج من مستقبلة تمييز UPLC QToF M/MS قامت به أبو (٢٠١٨) في مستخرجة الإيثانول ٩٦ % من ورقة الأقحوان النباتية وفقاً للنظام العالمي وقيمة LD₅₀ هي في الفئة ٣ (تم إذا ابتلعت أي < 50 ملخ/كج)، الفئة ٤ (تضُر إذا ابتلعت أي $2000 \leq LD_{50} \leq 300$ ملخ/كج) والفئة ٥ (قد تضر إذا ابتلعت أي $LD_{50} \leq 5000$ ملخ/كج).

الكلمات الرئيسية: في السيليكو، الأقحوان النباتية، عامل النمو الوعائي الوعائي (VEGFR)، مضادة للسرطان.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Globocan IARC tahun 2018 mengestimasikan di seluruh dunia ada 2,1 juta kanker payudara terdiagnosis. Di seluruh dunia, angka kematian penyakit kanker terdata enam besar dengan peringkat pertama yakni kanker paru-paru dengan persentase angka kematian sebesar 18,4%, diikuti dengan kanker payudara pada wanita sebesar 11,6%. Sedangkan kanker payudara di Indonesia menempati penyakit kanker yang memiliki persentase tertinggi (16,7%) dan persentase kematian yaitu 11,0% pada perempuan di Indonesia (Globocan, 2018). Berdasarkan Depkes RI (2015), jumlah kasus kanker payudara tertinggi terdapat di provinsi Jawa Timur dengan 9.688 kasus. Kurang lebih 60-70% penderita kanker tersebut tidak cepat memperoleh pengobatan yang berujung kematian. Adapun penyebab utama dari kematian tersebut adalah metastasis tumor dimana sel tumbuh secara abnormal dan terus-menerus tidak dapat dikendalikan sehingga dapat mengakibatkan rusaknya jaringan di sekitarnya yang juga menyebar ke berbagai tempat yang jauh dari asalnya. Tahap penting pada proses metastasis salah satunya adalah angiogenesis (Klauber-DeMore, 2001). Tahap ini membutuhkan stimulasi sel-sel endotelial pembuluh darah oleh faktor angiogenik yaitu *vascular endothelial growth factor* (Sledge and Miller, 2003).

VEGF/VEGFR2 merupakan jalur proangiogenik, jalur ini digunakan untuk peningkatan tahap angiogenesis diantaranya proliferasi, migrasi (invasi ke jaringan

sekitar), kelangsungan hidup sel endotelial, permeabilitas vaskular, dan pembentukan tabung kapiler. Ekspresi VEGF sendiri dikaitkan dengan perkembangan kanker, dimana jalur sinyal VEGF/VEGFR2 merupakan perantara utama adanya tumor angiogenesis, sehingga VEGF/VEGFR2 ialah sistem target yang digunakan untuk intervensi terapeutik pada kanker (Hoi *et al.*, 2014).

Berbagai cara dapat dilakukan untuk mengobati kanker, diantaranya dengan pembedahan, radioterapi dan kemoterapi (Liauw *et al.*, 2013). Pengobatan kanker lokal dan tidak metastasis yang paling efisien ialah pembedahan dan radioterapi, akan tetapi apabila kanker telah menyebar maka pengobatan yang paling efisien ialah dengan menggunakan obat kanker seperti hormon, kemoterapi bahkan biologi (Bruce *et al.*, 2005). Salah satu obat kanker payudara yang bisa digunakan ialah Lenvatinib. Lenvatinib merupakan inhibitor reseptor *tyrosine kinase* (RTK) yang selektif menghambat aktivitas *kinase* reseptor VEGF 1, 2 dan 3 (Pubchem, 2019).

Kemoterapi memiliki beberapa kelemahan diantaranya dapat berpengaruh terhadap sel yang normal dengan proliferasi yang sangat cepat, seperti pada folikel rambut, sumsum tulang, dan sel-sel saluran pencernaan (Lander *et al.*, 2001). Karena efek samping tersebut, maka perlu dilakukan pengembangan terapi alternatif pengobatan kanker salah satunya adalah menggunakan tanaman obat.

Allah menciptakan alam dengan berbagai tanaman di dalamnya, di antaranya ada yang berkhasiat sebagai obat (Wijayakusuma, 2000). Berdasarkan Al-Qur'an surat As-Syu'ara ayat 7 yang berbunyi :

أَوْلَمْ يَرَوُا إِلَى الْأَرْضِ كُمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ (٧)

Artinya:

“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik? ”.

Penekanan kalimat **من كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ** dalam ayat di atas memiliki arti tumbuh-tumbuhan yang baik. Maksudnya ialah tumbuhan yang dapat memberi manfaat untuk manusia di mana salah satunya adalah tumbuhan berkhasiat obat. Menurut tafsir as-Showi dalam kalimat **من كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ** menjelaskan bahwa Allah menciptakan tumbuh-tumbuhan yang memiliki manfaat serta mendatangkan kebaikan (Lajnah, 2009). Pada dasarnya pengobatan kanker seringkali menimbulkan efek samping. Berdasarkan hal tersebut, pemanfaatan tanaman **obat** untuk pilihan terapi antikanker diperlukan. Pada penelitian ini digunakan tanaman *Chrysanthemum cinerariifolium* sebagai tanaman obat pada penderita kanker.

Tanaman krisan banyak dijumpai sebagai tanaman hias, di samping itu tanaman ini digunakan sebagai obat-obatan dan insektisida. Dibeberapa negara, krisan ini dimanfaatkan sebagai obat tradisional diantaranya untuk mengobati peradangan, iritasi mata, sakit kepala, tekanan darah tinggi dan masalah pernafasan. **Obat** tradisional tersebut menggunakan salah satu tanaman krisan yaitu krisan putih (*Chrysanthemum cinerariifolium*(Trev.)). Terdapat sebuah penelitian yang menyebutkan *Chrysanthemum cinerariifolium* memiliki aktivitas antikanker yang kuat (Boutaghane *et al.*, 2013). Ditemukan senyawa utama dalam krisan yaitu senyawa golongan terpenoid dan flavonoid (Ukiya *et al.*, 2002). Pada kanker payudara, senyawa golongan terpenoid dan flavonoid dapat menghambat mutasi

oleh gen p53 yang dapat mencegah terjadinya proliferasi sel berlebihan sekaligus meningkatkan apoptosis sel (Bishayee *et al.*, 2011).

Berdasarkan obat sebelum-sebelumnya maka dapat dilakukan pengembangan dengan rancangan obat. Tujuannya yaitu mendapat obat yang baru dengan aktivitas lebih baik serta memiliki efek toksik lebih rendah melalui modifikasi struktur (Siswandono, 2016). Sebelum adanya modifikasi struktur, dilakukan terlebih dahulu uji untuk memprediksi sifat fisikokimia, aktivitas dan toksisitas senyawa yang akan disintesis. Metode tersebut ialah pemodelan molekul (Schlick, 2010). Pemodelan molekul (*in silico*) berperan penting pada bidang kimia medisinal, karena dapat merancang, menemukan dan mengoptimasi senyawa bioaktif (Hinchliffe, 2008; Siswandono, 2016). Uji *in silico* dilakukan dengan melakukan *docking* molekul senyawa yang akan diprediksi aktivitasnya pada sel target yang dipilih. *Docking* merupakan upaya untuk menyelaraskan antara ligan (molekul kecil) ke dalam sel target (molekul protein yang besar atau reseptor) (Jensen, 2007). Reseptor target pada kanker payudara diantaranya reseptor *estrogen*, reseptor *progesteron*, HER2, Ki67 serta VEGF (Ellyzar, 2017).

Berdasarkan pemaparan diatas, maka penelitian ini penting dilakukan untuk mengembangkan obat kanker dimana diperlukan tahap awal untuk memprediksi aktivitas antikanker, sifat fisikokimia dan toksisitas. Obat yang bersumber dari alam diharapkan menjadi salah satu alternatif pengobatan penyakit kanker karena bahan dari alam dimungkinkan berefek samping lebih rendah daripada obat untuk kemoterapi. Uji yang dilakukan pada penelitian ini ialah uji aktivitas antikanker, prediksi sifat fisikokimia, dan uji toksisitas senyawa yang terkandung dalam ekstrak

etanol 96% daun *Chrysanthemum cinerariifolium*. Uji aktivitas antikanker ditunjukkan dengan ikatan ligan dengan reseptor. Kemudahan senyawa untuk diabsorbsi ditunjukkan dengan terpenuhinya hukum lima Lipinski. Toksisitas ditunjukkan dengan LD₅₀, *ames toxicity* dan *hepatotoxicity* secara *in silico*.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian kali ini adalah:

1. Senyawa apakah diantara 35 senyawa hasil *metabolit profiling* oleh Ayu (2018) dalam ekstrak etanol 96% daun *Chrysanthemum cinerariifolium* yang memenuhi hukum lima Lipinski dalam skrining menggunakan aplikasi *SwissADME*?
2. Apakah terdapat senyawa dari hasil *metabolit profiling* oleh Ayu (2018) dalam ekstrak etanol 96% daun *Chrysanthemum cinerariifolium* yang memiliki aktivitas antikanker terhadap reseptor *vascular endothelial growth factor*?
3. Bagaimana toksisitas senyawa hasil skrining dari *metabolit profiling* oleh Ayu (2018) dalam ekstrak etanol 96% daun *Chrysanthemum cinerariifolium* berdasarkan *protox online tool* dan *pkCSM tool*?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian kali ini adalah:

1. Memprediksi senyawa apakah diantara 35 senyawa hasil *metabolit profiling* oleh Ayu (2018) dalam ekstrak etanol 96% daun *Chrysanthemum cinerariifolium* yang memenuhi hukum lima Lipinski dalam skrining menggunakan aplikasi *SwissADME*.

2. Memprediksi senyawa dari hasil *metabolit profiling* oleh Ayu (2018) dalam ekstrak etanol 96% daun *Chrysanthemum cinerariifolium* yang memiliki aktivitas terhadap reseptor *vascular endothelial growth factor*.
3. Memprediksi berapa toksisitas senyawa hasil skrining dari *metabolit profiling* oleh Ayu (2018) dalam ekstrak etanol 96% daun *Chrysanthemum cinerariifolium* berdasarkan *protox online tool* dan *pkCSM tool*.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini ialah dapat memberikan pengetahuan dan informasi tentang *screening* aktivitas senyawa dan *docking* molekuler menggunakan aplikasi *molegro virtual docker* dari 35 senyawa hasil *metabolit profiling* oleh Ayu (2018) dalam ekstrak etanol 96% daun *Chrysanthemum cinerariifolium* sebagai antikanker terhadap reseptor VEGF yang selanjutnya dapat dimanfaatkan sebagai pengembangan sediaan dimasa yang akan datang.

1.5 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian kali ini adalah:

1. Senyawa uji yang digunakan pada penelitian adalah 35 senyawa dalam ekstrak etanol 96% daun *Chrysanthemum cinerariifolium* dengan menggunakan metode UPLC-QTOF-MS/MS hasil penelitian skripsi dari Nia Ayu Lestari pada tahun 2018.
2. Protein target yang digunakan adalah reseptor *vascular endothelial growth factor* (3WZD).

3. Aplikasi yang digunakan untuk melakukan skrining 35 senyawa dalam ekstrak etanol 96% daun krisan (*Chrysanthemum cinerariifolium*) adalah *SwissADME*.
4. Aplikasi yang digunakan untuk *docking* senyawa dalam ekstrak etanol 96% daun krisan (*Chrysanthemum cinerariifolium*) dan reseptor VEGF (3WZD) adalah *molegro virtual docker* (MVD).
5. Interaksi antara ligan (senyawa 3D dalam ekstrak etanol 96% daun krisan) dan protein (VEGF dengan kode reseptor 3WZD) yang diamati adalah interaksi antagonis.
6. Parameter prediksi sifat fisikokimia diantaranya berat molekul, HBA, HBD, dan *torsion* menggunakan aplikasi *SwissADME*.
7. Parameter yang digunakan untuk *molecular docking* antara lain *rerank score*, nilai RMSD, ikatan hidrogen, ikatan sterik, dan jarak ikatan.
8. Parameter kelas toksitas berdasarkan nilai LD₅₀, *ames toxicity*, dan *hepatotoxicity* menggunakan *pkCSM tool* dan *protox online tool* secara *in silico*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pengembangan Ilmu Pengetahuan dalam Perspektif Islam

Setiap penyakit sebagaimana sabda rasulullah memiliki obatnya masing-masing termasuk penyakit kanker payudara, dimana dibutuhkan peran generasi muda serta ahli pengobatan. Langkah tersebut berupaya untuk membantu meningkatkan kualitas hidup bahkan kualitas ibadah seseorang. Penelitian membuktikan bahwa seseorang yang memiliki tingkat religius lebih tinggi memiliki kekebalan fisik (Hurlock, 2002; Mutaqin, 2017).

Terdapat berbagai macam pengobatan yang bisa dilakukan untuk mengobati penyakit kanker payudara, dimana salah satunya adalah kemoterapi. Namun kemoterapi memiliki beberapa kelemahan diantaranya dapat berpengaruh terhadap sel yang normal dengan proliferasi yang sangat cepat, seperti pada folikel rambut, sumsum tulang, dan sel-sel saluran pencernaan (Lander *et al.*, 2001). Karena efek samping tersebut, maka perlu dilakukan pengembangan terapi alternatif pengobatan kanker salah satunya adalah menggunakan tanaman obat.

Allah menciptakan alam dengan berbagai tanaman di dalamnya, di antaranya ada yang berkhasiat sebagai obat (Wijayakusuma, 2000). Berdasarkan Al-Qur'an surat As-Syu'ara ayat 7 yang berbunyi :

أَوْلَمْ يَرَوُا إِلَى الْأَرْضِ كُمْ أَنْبَثْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ رَوْجٍ كَرِيعٍ (٧)

Artinya:

“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?“.

Penekanan kalimat *من كُلِّ رَوْجٍ كَرِيعٍ* dalam ayat di atas memiliki arti tumbuh-tumbuhan yang baik. Maksudnya ialah tumbuhan yang dapat memberi manfaat untuk manusia di mana salah satunya adalah tumbuhan berkhasiat obat. Menurut tafsir as-Showi dalam kalimat *من كُلِّ رَوْجٍ كَرِيعٍ* menjelaskan bahwa Allah menciptakan tumbuh-tumbuhan yang memiliki manfaat serta mendatangkan kebaikan (Lajnah, 2009). Menurut hadits Rasulullah SAW "*Berobatlah kamu, karena sesungguhnya Dzat yang membuat penyakit, Dia pula yang membuat obatnya.*" (Riwayat Ahmad) (Qardhawi, 2008). Penjelasan hadist tersebut ialah sebagai farmasis perlu untuk meneliti tentang berbagai macam pengobatan, hal ini merupakan upaya memanfaatkan nikmat yang diberikan oleh Allah. Salah satu upaya tersebut ialah dengan cara menggunakannya sebagai tanaman obat. Karena pada dasarnya pengobatan kanker seringkali menimbulkan efek samping. Hadist tersebut juga membahas bahwa obat bukan muncul dari “langit” namun kita sebagai perantara harus memaksimalkan apa yang telah dimiliki untuk mengembangkan pengetahuan sehingga didapatkan obat untuk suatu penyakit. Berdasarkan hal tersebut, pemanfaatan tanaman obat untuk pilihan terapi antikanker diperlukan. Pada penelitian ini digunakan tanaman *Chrysanthemum cinerariifolium* sebagai tanaman obat pada penderita kanker.

In silico merupakan suatu metode yang digunakan untuk mengembangkan obat baru. Identifikasi menggunakan metode *in silico* tidak membutuhkan biaya mahal, penggerjaannya cepat dan tidak menggunakan hewan coba. Metode ini berperan pada proses merancang, menemukan, dan optimasi suatu senyawa aktif yang terdapat pada tanaman pada saat pengembangan obat baru (Hardjono, 2016). Hal ini dapat dilihat dari firman Allah dalam Al-quran surat Al-Ankabut ayat 43 berikut ini:

وَيَكُنِ الْأَمْثَالُ نَصْرِبَةً لِلنَّاسِ ۖ وَمَا يَعْقِلُهَا إِلَّا الْغَالِمُونَ

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

Berdasarkan firman Allah SWT, “وَيَكُنِ الْأَمْثَالُ Dan perumpamaan-perumpamaan ini” maksudnya, semua contoh ini telah disebutkan dalam surah Al-Baqarah ayat 26 dan surah Al-Hajj ayat 73. atau “*kami jelaskan*”, *للناس* ۖ *وَمَا يَعْقِلُهَا* atau “*Kami buat untuk manusia, dan tiada yang memahaminya*” maksudnya, mereka tidak memahaminya. *إِلَّا الْغَالِمُونَ* atau “*kecuali orang-orang yang berilmu*” maksudnya yakni orang-orang yang mengenal Allah, sebagaimana Jabir meriwayatkan dari Nabi Muhammad SAW, beliau bersabda, “*Orang yang berilmu adalah orang yang bisa memahami Allah SWT kemudian taat menjalankan apa yang diperintahkan dan menjauhi yang dimurkainya.*” (Al-Qurtubi dan Imam, 2009).

Menurut Al-Mahal *et al.*, 2007, pada tafsir Al-Jalalain makna dari ayat ini yaitu (Dan perumpamaan-perumpamaan ini) yang ada dalam al-qur'an (Kami buatkan) Kami jadikan (untuk manusia; dan tiada yang memahaminya) yang

mengerti akan perumpamaan-perumpamaan ini (kecuali orang-orang yang berilmu) yakni, orang-orang yang berpikir. Ayat ini merupakan seruan agar manusia belajar dan berfikir untuk memahami hal baru menggunakan ilmu pengetahuan dan teknologi yang semakin berkembang. *In silico* merupakan teknologi yang semakin berkembang untuk dijadikan acuan penemuan obat baru.

2.2 Tinjauan *In Silico*

Uji *in silico* berperan di bidang kimia medisinal dimana digunakan untuk rancangan, penemuan dan mengoptimasi senyawa bioaktif ketika mengembangkan obat. Dilakukan *docking* molekuler senyawa yang akan dilihat antara aktivitas dengan sel target yang dipilih. *Docking* merupakan upaya menyelaraskan di antara ligan atau molekul kecil (bagian dari senyawa yang berperan dalam donor elektron) ke dalam sel target yang dipilih yaitu molekul protein besar. Hasil dari uji ini yaitu *rerank score* dimana jumlah energi untuk membentuk ikatan antara ligan dengan reseptor ditunjukkan oleh energi ikatan. Semakin kecil energi ikatan berarti ikatannya semakin stabil. Sedangkan semakin stabilnya suatu ikatan antara ligan dengan reseptor maka diperkirakan aktivitasnya semakin besar (Hardjono, 2016).

Istilah *in silico* berasal dari salah satu logam penyusun utama perangkat komputer yaitu *chip* atau otak komputer yang terbuat dari *Silica* (Si). Sederhananya *in silico* berarti sebuah metode yang berupaya melakukan pendekatan kondisi yang nyata ke dalam simulasi berbasis komputer menggunakan program aplikasi tertentu (Suharna, 2012; Johan, 2016). *In silico* banyak dipilih dibanding metode yang lain seperti *in vivo* dan *in vitro*, karena membantu memperkirakan dan memberikan hipotesis tentang aktivitas suatu senyawa atau ligan, dimana proses dari *in vivo* dan

in vitro sendiri sulit untuk menjelaskan terjadinya mekanisme ligan dan target secara sederhana serta butuh waktu yang lebih lama dan biaya yang mahal (Hardjono, 2013).

Menurut Suharna (2012), berdasar pengenalan molekuler dan jenis algoritma, *in silico* dibagi menjadi 2 bentuk yaitu:

1. *Structure based design*, pemodelan ini menitikberatkan pada prinsip saling melengkapi antara ligan dengan molekul yang besar seperti gembok dan kunci. Pemodelan ini bertujuan memberi gambaran tentang kalkulasi energi interaksi antara ligan pada target yang sudah diketahui strukturnya. Metode ini digunakan pada protein target dengan data cukup lengkap serta beresolusi tinggi (Sliwoski *et al.*, 2014).
2. *Ligand based design*, pemodelan yang memprediksi ligan yang ditambatkan akan beraktivitas seperti senyawa yang telah diuji *in vivo* dan *in vitro*. Pemodelan ini disebut dengan homologi struktur ligan serta QSAR (Sliwoski *et al.*, 2014).

Prinsip metode *in silico* adalah penambatan ligan atau obat dengan target yang merupakan molekul besar untuk memperoleh sifat fisika dan kimia dari yang terbaik hingga paling buruk (Waddod *et al.*, 2013). Metode ini di dunia farmasi hanya dapat mengasumsikan aktivitas yang dihasilkan oleh senyawa. Walau pendekatan ini memberi gambaran rinci senyawa tanpa pengujian *in vitro* dan *in vivo*, namun metode ini perlu pembuktian dengan pengujian lainnya untuk menguatkan bukti aktivitas senyawa (Muchtaridi *et al.*, 2018).

2.3 Tinjauan Aplikasi Penunjang

2.3.1 Protein Data Bank

Protein Data Bank (PDB) merupakan kumpulan data yang berisi koleksi struktur 3D protein, DNA dan molekul kompleks lainnya yang telah dipublikasikan dan ditentukan secara eksperimen dengan menggunakan *X-Ray crystallography* atau *NMR spectroscopy*. Pada *X-Ray crystallography*, sinar X dipancarkan pada kristal yang mengandung jutaan salinan suatu molekul. Kemudian sinar X didifraksikan oleh kristal dan membentuk suatu pola yang bila dianalisis secara matematis sehingga akan menunjukkan posisi tiap atom di dalam molekul. *NMR spectroscopy* menggunakan molekul di dalam larutan dan akan memperlihatkan orientasi atom di dalam medan magnetik (Baxevanis, 2001). Sumber utama untuk data struktur protein terdapat pada PDB yang tersedia dalam situs <http://www.pdb.org/>. Situs ini merupakan arsip data struktural tunggal tingkat dunia yang dibuat oleh RCSB.

2.3.2 SwissADME

SwissADME atau *physicochemical descriptor* ialah aplikasi gratis berbasis *online*. *SwissADME* bertujuan untuk memprediksikan aktivitas senyawa berdasar struktur. Berbagai kalangan memanfaatkannya untuk mengembangkan obat baru dengan membantu meramalkan aktivitas berdasar sifat fisikokimia dan juga dapat meramalkan sifat senyawa berdasar aspek farmakokinetik dan farmakodinamiknya. Manfaat *SwissADME* yaitu dapat menunjukkan prediksi dari banyak senyawa sekaligus sehingga lebih mudah untuk dianalisis dengan menampilkan mode *boiled*

EGG yang menggambarkan prediksi kemampuan senyawa dapat terabsorpsi hingga dapat menembus BBB *permeant* (Daina *et al.*, 2016).

2.3.3 Molegro Virtual Docker

MVD adalah aplikasi untuk mempelajari dan memberikan prediksi interaksi ligan dengan molekul yang besar. Pengidentifikasi ikatan ligan dilakukan dengan mengevaluasi berulangkali dan memprediksikan energi ikatan dengan molekul yang besar (CLCbio, 2013). Aplikasi ini digunakan dengan pertimbangan ketepatan akurasi *docking* oleh MVD terbukti lebih baik dari program *docking* yang sejenisnya yaitu dengan presentase MVD 87%, *Glide* 82%, *Surflex* 75%, *Flex* 58% (Thomson, 2006).

2.3.4 Protox Online Tool

Server web *ProTox-II* memiliki kelebihan daripada model komputasi yang ada. Server ini, menjangkau pengetahuan target kimia dan molekul. Prediksi web ini diklasifikasikan ke berbagai tingkat toksisitas seperti toksisitas oral, toksisitas organ (hepatotoksisitas), titik akhir toksikologi (seperti mutagenisitas, karsinotoksisitas, sitotoksitas dan imunotoksisitas), jalur toksikologis dan target toksisitas. Hal tersebut memberikan pengetahuan mekanisme molekuler terkait respon toksisitas. *ProTox-II* dengan versi baru menggabungkan kesamaan molekul, berbasis farmakofor, kecenderungan fragmen, fitur yang paling umum dan model pembelajaran mesin untuk prediksi berbagai titik akhir toksisitas (Banerjee *et al.*, 2018).

2.4 Interaksi Obat dengan Reseptor

2.4.1 Hubungan Obat dengan Reseptor

Obat merupakan senyawa kimia yang berinteraksi selektif dengan sistem biologi. Obat menjadi pemicu suatu sistem dan memberikan efek, dapat menekan sistem, atau tidak langsung berinteraksi namun mengubah efek dari obat lain. Sedangkan reseptor merupakan suatu molekul yang besar dari jaringan sel hidup dimana didalamnya terkandung gugus fungsional atau atom yang tersusun, bersifat spesifik dan reaktif, ikatannya dengan ligan dapat bersifat reversibel yang mana terjadi di dalam sel sehingga menghasilkan efek seluler (Ikawati, 2006).

Interaksi antara obat dengan reseptor dapat membentuk kompleks obat-reseptor yang dapat merangsang timbulnya respons biologis, baik respon agonis maupun antagonis. Berdasarkan letaknya reseptor terdiri dari reseptor intraseluler dan reseptor membran sel. Sedangkan berdasarkan transduksi sinyalnya, reseptor dibedakan menjadi 4, antara lain reseptor terhubung kanal ion, reseptor terhubung protein G, reseptor yang terkait dengan aktivitas kinase (enzim), dan reseptor intraselular. Respon biologis akan muncul apabila ada interaksi antara struktur tempat (sisi reseptor) dengan struktur molekul asing (obat) yang cocok dan saling melengkapi (Siswandono, 2016).

Obat berinteraksi dengan reseptornya melalui gaya atau ikatan kimia. Ikatan kimia tersebut terdiri dari ikatan kovalen, elektrostatik, hidrogen, dan hidrofobik. Ikatan kovalen merupakan ikatan yang sangat kuat dan pada banyak kasus tidak dapat dilepaskan pada kondisi biologik. Contoh obat pembentuk ikatan kovalen yang sangat reaktif adalah obat golongan pengalkil DNA yang digunakan pada

kemoterapi. Dalam interaksi obat-reseptor, ikatan elektrostatik jauh lebih sering terjadi daripada ikatan kovalen. Ikatan elektrostatik lebih lemah daripada ikatan kovalen. Sedangkan ikatan hidrofobik merupakan ikatan yang paling lemah, biasanya ikatan ini ada dalam interaksi obat-obat yang larut dalam lemak. Terdapat dua jenis interaksi antara obat-reseptor, yaitu agonis dan antagonis. Agonis merupakan obat (ligan) yang memiliki afinitas yang jauh lebih tinggi terhadap konfigurasi Ra (reseptor dalam bentuk aktif) sehingga sebagian besar reseptor berada dalam fraksi Ra-D dan menghasilkan efek yang kuat. Obat agonis berikatan dengan reseptor yang secara langsung maupun tidak langsung yang dapat menimbulkan efek. Sedangkan obat antagonis akan bersaing dengan agonis dengan mencegah pengikatan obat (ligan), sehingga efek agonis akan menurun. Sebagian obat antagonis berikatan secara kuat dan bersifat irreversibel atau pseudoirreversibel dengan reseptor serta tidak dapat digeser walaupun dengan meningkatkan konsentrasi agonis (Katzung, *et al.*, 2015).

2.4.2 Ikatan Obat dengan Reseptor

2.4.2.1 Ikatan Kovalen

Ikatan ini dibentuk oleh 2 atom yang menggunakan sepasang elektron bersama-sama. Ikatan ini adalah ikatan kimia terkuat. Pada suhu normal ikatan ini bersifat *irreversibel* dimana hanya dapat terpecahkan dengan adanya pengaruh katalisator enzim tertentu. Interaksi obat dengan reseptor melalui ikatan kovalen menghasilkan kompleks yang cukup stabil, dan sifat ini dapat digunakan untuk tujuan pengobatan tertentu (Siswandono, 2016).

2.4.2.2 Ikatan Ionik

Ikatan berasal dari daya tarik-menarik elektrostatik antara ion-ion yang muatanya berlawanan. Kekuatan tarik-menarik tersebut berkurang bila jarak antar ion semakin jauh dan pengurangan tersebut berbanding terbalik dengan jaraknya (Siswandono, 2016).

2.4.2.3 Ikatan Hidrogen

Ikatan karena adanya gaya tarik-menarik antara atom hidrogen dengan atom yang memiliki keelektronegatifan besar dalam molekul. Ikatan ini dibentuk oleh interaksi antara 2 molekul dimana salah satunya berperan sebagai donor dan yang lain berperan sebagai penerima (akseptor). ikatan ini paling kuat namun lebih lemah daripada ikatan ion dan kovalen. Prinsipnya semakin besar perbedaan keelektronegatifan yang dimiliki oleh atom-atom penyusunnya maka kekuatan ikatan hidrogen yang dihasilkan akan semakin besar (Patrick, 2001).

2.4.2.4 Ikatan *Van der Waal's*

Ikatan ini ada karena kuatnya gaya tarik-menarik antara molekul atau atom yang tidak bermuatan dan dekat letaknya. Ikatan ini terjadi berdasarkan kepolaran molekul suatu atom (Siswandono, 2016). Ketika 2 atom saling berdekatan, maka gaya tariknya lemah dan nonspesifik sehingga mengakibatkan interaksi *Van der Waal's*. Kuatnya interaksi berkurang secara drastis apabila jarak molekulnya meningkat sehingga interaksi ini hanya terbentuk ketika atom-atom terletak pada jarak dekat. Namun bila atom terlalu dekat, atom tersebut akan saling tolak-menolak karena adanya muatan negatif pada kulit elektron terluar (Lodish *et al.*, 2000).

2.5 Tinjauan Krisan

Bunga krisan (*Crhysanthemum cinerariifolium*) merupakan tanaman dari family *Asteraceae* yang selama ini digunakan oleh masyarakat sebagai tanaman hias karena bunganya yang indah. Bukti empiris (penggunaan secara tradisional) menunjukkan bahwa tanaman krisan telah banyak dimanfaatkan sebagai obat antibakteri, antiinflamasi, antialergi, dan juga antikanker (Alviana dkk., 2016; Listiyana *et al.*, 2018). Terdapat penelitian yang menyebutkan *Chrysanthemum cinerariifolium* memiliki aktivitas antikanker yang kuat (Boutaghane *et al.*, 2013). Ditemukan senyawa dominan dalam tanaman krisan yaitu senyawa golongan terpenoid dan flavonoid (Ukiya *et al.*, 2002). Pada kanker payudara, senyawa golongan terpenoid dan flavonoid dapat menghambat mutasi gen p53 yang dapat mencegah terjadinya proliferasi sel berlebihan sekaligus meningkatkan apoptosis sel (Bishayee *et al.*, 2011). Menurut Mirossay (2017), studi farmakologis dilakukan pada flavonoid secara *in vitro* dan *in vivo* dimana terdapat gangguan dengan sejumlah besar faktor pertumbuhan, faktor transkripsi, reseptor, dan protein lain yang mengatur seluler fungsi dan kelangsungan hidup menghasilkan efek antiangiogenik dan antikanker bersamaan.

Secara taksonomi klasifikasi krisan menurut Turang (2007), adalah:

Kingdom : Plantae

Divisi : Spermatophyta

Sub Divisi : Angiospermae

Class : Dicotyledoneae

Ordo : Asterales

Famili : Asteraceae

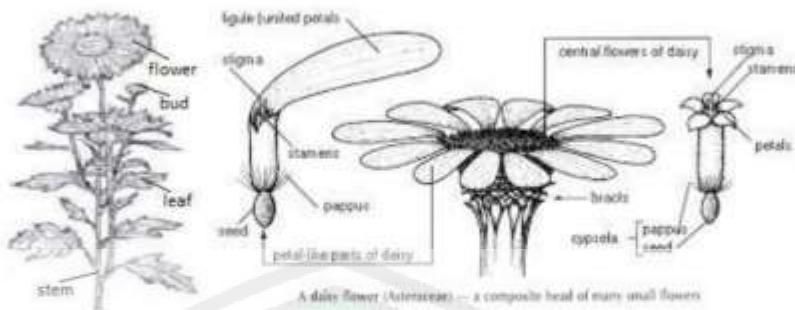
Genus : Chrysanthemum

Species : *Chrysanthemum cinerariifolium*



Gambar 2.1 *Chrysanthemum cinerariifolium* (Turang,2007)

Tanaman *Chrysanthemum cinerariifolium* yang bisa dilihat pada gambar 2.1, bercirikan tinggi 80-100 cm, memiliki tangkai hijau keperakan, tubuh tanaman seringkali ditutupi dengan rambut halus seperti sutra. Daunnya terbelah dengan bagian menyirip pada dasar daun, panjang daun 10-20 cm, bilah daun lebih pendek dari tangkai daun, daun bagian atas umumnya lebih kecil dan memiliki tangkai daun lebih pendek. Suhu optimal untuk berfotosintesis tanaman ini antara 15°C dan 20°C. Periode vegetative berlangsung beberapa bulan sampai tumbuh bunga, onset berbunga tanaman ini sekitar 6 minggu dengan suhu di bawah 13°C pada suhu antara 15°C dan 20°C dapat meningkatkan hasil bunga. Morfologi dari tanaman krisan dapat dilihat pada gambar 2.2 (Catalano *et al.*, 2014).



Gambar 2.2 Morfologi Tanaman Krisan (Catalano et al., 2014)

Bunga dari tanaman krisan memiliki kandungan kimia yaitu saponin, kandungan daunnya yaitu alkaloida dan tanin, dan kandungan minyak atsiri terdapat pada bunganya. Terdapat kandungan senyawa alami yang memiliki potensi diantaranya golongan flavonoid, triterpenoid, dan *caffeoylequinic acid derivatives* yang telah diisolasi pada beberapa penelitian sebelumnya. Menurut Prakash (2014), krisan memiliki kandungan senyawa aktif yang banyak dengan terpenoid dan flavonoid sebagai golongan utama. Sedangkan menurut Sun (2010), krisan memiliki berbagai macam jenis senyawa flavonoid. Berikut ini akan ditampilkan beberapa kandungan flavonoid pada ekstrak daun krisan (*Chrysanthemum cinerariifolium*) (Tabel 2.1).

Tabel 2.1 Kandungan Flavonoid *Chrysanthemum cinerariifolium* (Listiyana, 2018):

Senyawa Flavonoid	Kadar (mg/gr)
<i>Vitexin-2-O- rhamnoside</i>	0.10 ± 0.01
<i>Quercetin-3-galactoside</i>	2.46 ± 0.02
<i>Luteolin-7-glucoside</i>	50.59 ± 0.94
<i>Quercetin-3- glucoside</i>	1.33 ± 0.09
<i>Quercitrin</i>	21.38 ± 0.80
<i>Myricetin</i>	2.13 ± 0.08

<i>Luteolin</i>	5.22 ± 0.48
<i>Apigenin</i>	0.70 ± 0.10
<i>Kaempferol</i>	0.14 ± 0.02
Total	83.95 ± 2.77

Tanaman krisan memiliki beberapa manfaat, diantaranya (Andiani, 2013):

1. Menjadi tanaman hias, untuk bunga pot dan bunga potong.
2. Bunga krisan digunakan sebagai obat.

Jenis penyakit yang dapat diobati dengan tanaman krisan antara lain batuk, nyeri perut oleh angin dan sakit kepala akibat peradangan rongga sinus. Di Jepang, kelopak bunga krisan dipercaya dapat memberikan kesehatan apabila diminum bersama segelas anggur. Krisan yang dijadikan minuman adalah krisan berwarna kuning dan putih.

3. Bunga krisan menghasilkan racun serangga secara alami.

Krisan berfungsi sebagai antiserangga, antijamur dan antinematoda atau hama cacing karena tanaman ini memiliki kandungan piretrin yang dapat dimanfaatkan untuk antiserangga sistemik yang menyerang urat syaraf pusat yang diaplikasikan dengan penyemprotan. Kandungan tersebut banyak digunakan sebagai aerosol untuk antinyamuk, antiserangga untuk dicampur dengan air, dan antinyamuk bakar.

4. Bunga krisan dapat dimanfaatkan sebagai teh.

Negara di Asia Timur seperti Jepang dan Cina telah memanfaatkan ramuan teh krisan ini sejak dahulu kala sebagai warisan nenek moyang. Negara barat menyebutnya dengan *Chrysanthemum tea* dan banyak meminumnya untuk

mengurangi sakit kepala, sesak napas, dan untuk memperkuat paru-paru. Pengobatan herbal dengan teh krisan di negara barat yaitu dengan diminum dan menggunakannya sebagai kompres untuk mengobati gangguan peredaran darah seperti varises. Teh krisan memiliki banyak anti virus dan kualitas *antispirochete* yang dapat membantu dalam menyembuhkan tekanan darah, penyakit jantung koroner, kolesterol tinggi, kolik jantung dan arteriosklerosis. Senyawa uji dalam penelitian ini yaitu struktur dari 35 senyawa hasil *metabolit profiling* UPLC-QTOF-MS/MS oleh Ayu (2018) ekstrak etanol 96% daun *Chrysanthemum cinerariifolium*. Berikut ini akan ditampilkan 35 senyawa tersebut (Tabel 2.2).

Tabel 2.2 Senyawa hasil *metabolit profiling* UPLC-QTOF-MS/MS ekstrak etanol 96% daun *Chrysanthemum cinerariifolium* (Ayu, 2018):

No	Calculated M/Z	Formula	Nama Senyawa
1.	150,0277	C3H6N2O5	<i>Urea ethanedioate</i>
2.	292,0565	C11H12N6S2	<i>9-Methyl-5-(methylsulfanyl)-8,9,10,11-tetrahydropyrido[4',3':4,5]thieno[3,2-e]tetrazolo[1,5-c]pyrimidine</i>
3.	119,0735	C8H9N	<i>Indoline</i>
4.	202,1317	C9H18N2O3	<i>Isoleucyl-Alanine</i>
5.	187,0633	C11H9NO2	<i>Indoleacrylic acid</i>
6.	185,1164	C8H15N3O2	<i>1-Acetyl-3-piperidinecarbohydrazide</i>
7.	216,0899	C12H12N2O2	<i>3',4'-Dihydro-1'H,2H,5Hspiro{imidazolidine-4,2'-naphthalene}-2,5-dione</i>
8.	243,1471	C12H21NO4	<i>Tiglylcarnitine</i>
9.	439,2471	C25H33N3O4	<i>N-Isobutyl-N2-[2-[(4-methoxybenzoyl)amino]benzoyl]isoleucinamide</i>
10.	462,0798	C17H23N4O5S2Cl	<i>4-Chloro-2-[(4-[(2,6-dimethyl-4-morpholinyl)sulfonyl]-1-piperazinyl)sulfonyl]benzonitrile</i>
11.	578,1636	C27H30O14	<i>Kaempferitin</i>

12.	446,0862	C22H14N4O7	<i>N-[(1,3-Dioxo-1,3-dihydro-2Hisoindol-2-yl)methyl]-3,5-dinitro-Nphenylbenzamide</i>
13.	527,1922	C25H34NO9Cl	<i>1-(Nitrooxy)-2-propenyl(5Z)-7-[(1R,2R,3R,5S)-2-[(1E,3R)-4-(3-chlorophenoxy)-3-hydroxy-1-buten-1-yl]-3,5-dihydroxycyclopentyl]-5-heptenoate</i>
14.	459,2257	C25H33NO7	<i>2-Methoxyethyl 2,7,7-trimethyl-5-oxo-4-(3,4,5-trimethoxyphenyl)-1,4,5,6,7,8-hexahydro-3-quinolinecarboxylate</i>
15.	286,0477	C15H10O6	<i>Kaempferol</i>
16.	316,0583	C16H12O7	<i>Isorhamnetin</i>
17.	270,0528	C15H10O5	<i>Genistein</i>
18.	330,074	C13H19N4S2Cl	<i>N-[(5-Chloro-1,2,3-thiadiazol-4-yl)methyl]-1-(2-isopropyl-4-methyl-1,3-thiazol-5-yl)-Nmethylethanamine</i>
19.	488,2159	C25H32N2O8	<i>(2-Methyl-1,4-piperazinediyl)bis[(3,4,5-trimethoxyphenyl)methanone]</i>
20.	309,2304	C18H31NO3	<i>N,N-Diisobutyl-4,7,7-trimethyl-3-oxo-2-oxabicyclo[2.2.1]heptane-1-carboxamide</i>
21.	471,2257	C26H33NO7	<i>2-Methoxyethyl 4-(4-acetoxy-3-ethoxyphenyl)-2,7,7-trimethyl-5-oxo-1,4,5,6,7,8-hexahydro-3-quinolinecarboxylate</i>
22.	344,0905	C19H20O2S2	<i>2-(7,8-Dimethyl-1,5-dihydro-2,4-benzodithiepin-3-yl)phenyl acetate</i>
23.	521,2414	C30H35NO7	<i>2-Phenoxyethyl 2,7,7-trimethyl-5-oxo-4-(2,3,4-trimethoxyphenyl)-1,4,5,6,7,8-hexahydro-3-quinolinecarboxylate</i>
24.	229,1467	C15H19NO	<i>Pronetalol</i>
25.	403,1168	C22H17N3O5	<i>Azoxystrobin</i>
26.	218,1671	C15H22O	<i>(+)-Nootkatone</i>
27.	267,1623	C18H21NO	<i>Azacyclonol</i>
28.	269,178	C18H23NO	<i>Orphenadrine</i>
29.	387,0986	C19H18N3O4Cl	<i>Pyraclostrobin</i>
30.	519,3322	C29H41N7O2	<i>3-[(4-Cyclohexyl-1-piperazinyl)(1-cyclohexyl-1H-tetrazol-5-yl)methyl]-6-ethoxy-2(1H)-quinolinone</i>
31.	602,5274	C39H70O4	<i>3,4-Bis(hexadecyloxy) benzoic acid</i>
32.	608,2635	C35H36N4O6	<i>3,3',3''-(3,8,13,17-Tetramethyl-12-vinyl-2,7,18-porphyrintriyl)tripropanoic acid</i>
33.	594,2842	C35H36N4O5	<i>Pheophorbide A</i>
34.	181,9771	C8H3O3Cl	<i>5-Chloro-2-benzofuran-1,3-dione</i>
35.	168,969	C3H7NOS3	<i>(2R)-2-Amino-3-Trisulfanylpropanal</i>

2.6 Tinjauan Kanker

2.6.1 Definisi Kanker

Salah satu jenis penyakit yang tidak menular dan menjadi penyebab kematian terbesar di dunia ialah kanker. Penyakit ini berawal pertumbuhan tak terkendali sel tubuh sehingga merusak sel dan jaringan sekitarnya, yang dapat mengakibatkan kematian. Penyakit ini dapat menimpa berbagai kalangan, namun kasus kanker meningkat seiring usia bertambah (Zdanowicz, 2003).

Sel hanya akan membelah dirinya untuk mengganti sel yang rusak dan mati dalam keadaan fisiologis. Namun berbeda dengan sel kanker dimana sel kanker berkembang cepat, tak dapat dikendalikan, serta terus berproliferasi yang kemudian menyusup ke dalam jaringan di sekitarnya dan menyebar melalui jaringan ikat dan darah yang dapat menyerang saraf, tulang, dan organ sehingga terjadilah tumpukan sel baru yang akhirnya berubah menjadi ganas (Aziz, 2010).

2.6.2 Antikanker

Antikanker (obat sitostatika) adalah obat yang bermanfaat untuk membunuh dan menghambat proses pembelahan diri sel kanker. Antikanker memiliki sifat yang beracun bagi sel kanker maupun sel normal yang pembelahan dirinya cepat, khususnya sel pada sumsum tulang belakang, sel pada epitel gastrointestinal, dan sel folikel rambut. Obat ini digunakan dalam bentuk per oral ataupun parenteral. Obat ini juga diharapkan memiliki toksitas selektif, artinya hanya menghancurkan sel kanker itu sendiri tanpa merusak sel normal disekitarnya (Neal, 2005).

Cara memprediksi aktivitas obat ialah dengan mengetahui kebutuhan energi senyawa dengan reseptor. Energi yang dihasilkan berbentuk nilai *rerank score*

(Hardjono *et al.*, 2016). Dimana semakin kecil energi ikatannya (*rerank score*) berarti semakin stabil ikatan tersebut. Namun apabila ikatan antara ligan dengan reseptor semakin stabil maka aktivitasnya semakin besar (Kesuma *et al.*, 2018).

2.6.3 Penggolongan Senyawa Anti Kanker

Klasifikasi antikanker dibagi menjadi 6 golongan yaitu golongan senyawa pengalkilasi, produk dari bahan alam, hormon, agen target molekuler, antimetabolit, dan agen *miscellaneous*. Setiap golongan dibagi menjadi beberapa sub golongan antara lain golongan senyawa pengalkilasi yang terdiri dari 7 sub golongan yaitu sub golongan *nitrogen mustard*, *etyleneimina* dan *methyleneimina*, *alkil sulfonat*, *nitrosourea*, *metilhidrazin*, *triazine*, dan *platinum kompleks*. Golongan antimetabolit sendiri terbagi menjadi 3 sub golongan, yaitu sub golongan antagonis asam folat, antagonis pirimidin, dan antagonis purin. Golongan produk bahan alam memiliki 4 sub golongan, yaitu sub golongan *vinca alkaloid*, *taxane*, antibiotik antikanker, dan inhibitor *topoisomerase*. Golongan agen target molekular terdiri dari 3 sub golongan, yaitu sub golongan retinoid, antibodi monoklonal, dan inhibitor *tyrosin kinase* (Missailidis, 2008).

2.6.4 Toksisitas Anti Kanker

Antikanker memiliki ciri berbeda dengan obat lain karena memiliki frekuensi dan keparahan efek samping yang dapat terjadi walau dalam dosis terapi. Sebagian besar obat antikanker yang beredar saat ini memiliki sifat sitotoksik. Kemoterapi dikombinasikan dengan beberapa obat antikanker, sehingga berefek samping yang kompleks, toksitasnyapun meningkat. Beberapa obat antikanker bersifat karsinogenik dan mutagenik yang memiliki dampak kanker periode kedua.

Karsinogenik merupakan suatu senyawa penyebab penyakit kanker atau dapat meningkatkan risiko timbulnya penyakit kanker (Saracci dan Wild, 2015).

Kanker timbul karena terdapat perubahan permanen pada gen, salah satunya yaitu *p53 tumor supressor gen*, atau adanya ras proto onkogen yang diakibatkan oleh paparan zat karsinogen atau zat mutagen. Materi genetik yang terdapat dalam DNA dapat dirusak oleh zat mutagen. Ketika terjadi mutasi pada sel gamet, maka perubahan tersebut akan diturunkan, yang akan menimbulkan permasalahan meliputi penyakit genetik, gangguan fertilitas, malformasi, dan lain-lain. Berdasar mekanisme aksi, zat karsinogen diklasifikasikan sebagai zat karsinogen genotoksik dan non genotoksik. Semua karsinogenik diduga bersifat mutagenik (mengakibatkan kerusakan DNA), namun tidak semua mutagenik bersifat karsinogenik (Lee, *et al.*, 2014).

Toksisitas ialah adanya efek racun pada bahan *single dose* atau dalam campuran. Uji toksisitas dimanfaatkan untuk mencari informasi toksisitas bahan kimia dalam hewan coba. Uji toksisitas secara umum dapat dikelompokkan menjadi uji toksisitas akut atau jangka pendek dan uji toksisitas dengan jangka yang panjang (Donatus, 2005). *Ames Toxicity* dapat digunakan untuk menguji senyawa. Uji ini dipakai untuk menilai potensi mutagenik senyawa dengan memakai bakteri (Kesuma *et al.*, 2018). LD₅₀ menunjukkan dosis toksisitas (Ihwan *et al.*, 2018). LD₅₀ adalah pemberian suatu senyawa atau bahan yang dapat menyebabkan kemataian 50% pada kelompok hewan coba (Kesuma *et al.*, 2018). Uji toksisitas secara eksperimental laboratorium membutuhkan tenaga, waktu panjang, biaya yang tidak murah, dan fasilitas memadai. Sebaliknya jika prediksi toksisitas dari

model HKSA (Hubungan Kuantitatif Struktur Aktivitas) dapat digunakan untuk mendukung hipotesis dan memprioritaskan studi eksperimental lebih lanjut (Djalil *et al.*, 2012).

Tingkat kelas toksisitas berdasarkan *Globally Harmonized System (GHS)* yaitu (El Din *et al.*, 2016):

- a. Kelas I : Fatal jika tertelan dengan $LD_{50} \leq 5 \text{ mg/kg}$
- b. Kelas II : Fatal jika tertelan ($5 < LD_{50} \leq 50 \text{ mg/kg}$)
- c. Kelas III : Toksik jika tertelan ($50 < LD_{50} \leq 300 \text{ mg/kg}$)
- d. Kelas IV : Berbahaya jika tertelan ($300 < LD_{50} \leq 2000 \text{ mg/kg}$)
- e. Kelas V : Kemungkinan bisa berbahaya jika tertelan ($2000 < LD_{50} \leq 5000 \text{ mg/kg}$)
- f. Kelas VI : Tidak beracun ($LD_{50} > 5000 \text{ mg/kg}$).

2.6.5 Tinjauan Kanker Payudara

2.6.5.1 Pengertian Kanker Payudara

Kanker payudara merupakan tumor atau jaringan ganas dari sel payudara yang tidak bisa dikendalikan perkembangannya sehingga dapat menyebar pada jaringan atau organ di dekat payudara dan bahkan ke bagian tubuh lainnya (Kementerian Kesehatan RI, 2015). Berdasarkan *National Breast Cancer Foundation*, kanker payudara dimulai dalam sel-sel lobulus (kelenjar penghasil susu), atau dimulai dari saluran yang mengalirkan susu dari lobulus ke puting. Selain itu kanker payudara juga dapat dimulai di jaringan stroma, yang meliputi lemak dan jaringan ikat fibrosa payudara.

2.6.5.2 Faktor resiko

Faktor penyebab terjadinya suatu kanker yaitu:

1. Umur

Kanker payudara jarang terjadi pada usia sebelum 30 tahun, kecuali pada beberapa kasus yang berhubungan dengan faktor familial. Secara keseluruhan dapat terjadi pada semua usia, 77% terjadi pada wanita di atas 50 tahun atau setelah masa menopause dan rata-rata diagnosis ditegakkan pada wanita usia 64 tahun (Kumar *et al.*, 2007)

2. Usia Menarche

Pada 20% kasus, terjadi peningkatan insiden kanker payudara pada wanita yang usia menarche kurang dari 11 tahun jika dibandingkan dengan usia yang mendapat menarche pada usia 14 tahun. Menopause yang terlambat juga merupakan faktor penyebab terjadinya resiko kanker payudara. Ini juga dapat terjadi pada wanita yang pertama melahirkan pada usia 35 tahun (Underwood, 2010)

3. Usia Kehamilan

Pada wanita dengan usia kehamilan anak pertama kurang dari 20 tahun memiliki faktor resiko separuhnya jika dibandingkan dengan wanita pada saat usia kehamilan anak pertama lebih dari 35 tahun atau pada multipara. Diduga, pada saat kehamilan menyebabkan terjadi diferensiasi terminal sel-sel epitel yang akan berkompetensi untuk terjadinya perubahan kearah keganasan (Underwood, 2010).

4. Hubungan familial pada garis pertama

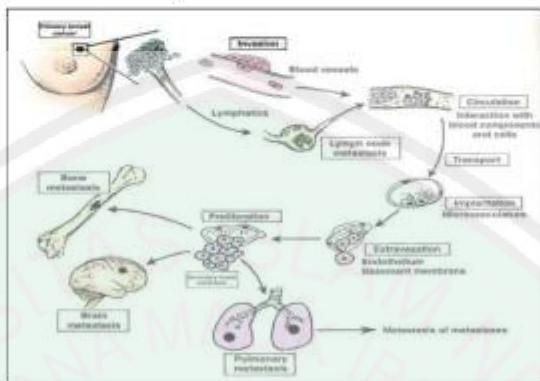
Resiko terjadinya kanker payudara meningkat sehubungan dengan derajat kekerabatan garis pertama familial dalam keluarga, misalnya ibu, saudara perempuan dan anak perempuan. Secara mayoritas kanker terjadi pada tanpa adanya hubungan tersebut, sekitar 13% yang mempunyai hubungan demikian atau hampir tiga kali lipat resiko terkena lebih besar. Kemungkinan lebih besar bila ibu dan saudaranya menderita kanker sebelum masa menopause (Sjamsuhidajat, 2005).

5. Paparan Estrogen

Penggunaan hormon pengganti pada wanita postmenopausal menunjukkan peningkatan faktor resiko terjadinya kanker payudara. Pemberian estrogen dan progesteron secara bersamaan meningkatkan terjadinya insiden kanker payudara jika dibandingkan dengan pemberian estrogen saja. Keadaan ini terutama dijumpai pada karsinoma lobular invasif. Tidak adanya estrogen endogen akibat oovorektomi dapat menurunkan insiden kanker payudara mencapai 75%. Pada epitel payudara reseptor terhadap hormon estrogen dan progesteron yang mungkin berinteraksi dengan promotor pertumbuhan dari sel kanker itu sendiri, seperti transforming growth factor alfa yang berkaitan dengan faktor pertumbuhan yang berada pada lapisan epitel, platelet-derived growth factor, dan faktor pertumbuhan fibroblast yang dikeluarkan oleh sel kanker payudara untuk menciptakan suatu mekanisme autokrin perkembangan tumor (Sjamsuhidajat, 2005). Faktor-faktor lain yang berpengaruh seperti

geografik, diet, obesitas, olahraga teratur, menyusui, toksin lingkungan dan merokok dikatakan mempunyai faktor keterkaitan (Bujo, 2005).

2.6.5.3 Patofisiologi Kanker Payudara



Gambar 2.3 Respon Imun saat Terserang Kanker Payudara (Denardo, 2007)

Kanker payudara disebabkan oleh banyak faktor baik lingkungan maupun genetik. Adanya kerusakan pada DNA menyebabkan mutasi genetik. Terjadinya kanker ini karena menghilangnya kontrol sel payudara dan apoptosis sehingga sel payudara berproliferasi secara abnormal. Hilangnya fungsi apoptosis menyebabkan kegagalan mendeteksi kerusakan sel. Bila terjadi mutasi gen p53 maka fungsi sebagai pendekripsi kerusakan DNA akan hilang, sehingga sel-sel abnormal berproliferasi terus. Terbentuknya benjolan inilah yang disebut sebagai tumor atau kanker. Tumor jinak berasal dari gumpalan lemak yang terbungkus dalam wadah seperti kantong. Lewat aliran darah maupun sistem getah bening, sel-sel tumor dan racun yang dihasilkan keluar dari gumpalannya dan menyebar ke bagian lain tubuh (Fitryesta, 2016).

Sel yang menyebar ini selanjutnya berkembang di tempat yang baru dan membentuk tumor ganas atau kanker baru. Ganasnya kanker payudara ditandai dengan penyerangan sel-sel normal di sekitarnya terutama sel yang lemah. Sel

kanker berproliferasi cepat sehingga payudara penderita akan membesar tidak seperti biasanya. Kanker payudara berasal dari epitel saluran dan kelenjar payudara. Pertumbuhan dimulai dari dalam duktus ataupun kelenjar lobulus yang disebut karsinoma *noninvasive*. Kemudian tumor menerobos ke luar dinding duktus atau kelenjar di daerah lobulus dan invasi ke dalam stroma yang dikenal dengan nama karsinoma *invasive*. Penyebaran kanker pertama kali ke kelenjar腋下 regional. Lokasi paling jauh antara lain tulang, hati, paru, pleura, dan otak. Respon imun saat terserang kanker payudara dapat dilihat pada gambar 2.3 (Fitryesta, 2016).

2.6.5.4 Tingkatan Perkembangan Kanker Payudara

Stadium kanker payudara yaitu (Suryaningsih, 2009):

1. Stadium 0 (tumor belum menyebar ke pembuluh atau saluran payudara).
2. Stadium I (tumor belum menyebar keluar payudara).
3. Stadium II A (terdapat benjolan 2 cm dari kanker, belum terdeteksi dari luar).
4. Stadium II B (benjolan 2-5 cm menyebar ke kelenjar susu dan daerah ketiak, langkah yang dilakukan adalah pengangkatan sel kanker).
5. Stadium III A (ukuran kanker melebihi 5 cm yang menyebar ke daerah limfa serta pembuluh getah bening ketiak).
6. Stadium III B atau *Inflammatory Breast Cancer* (benjolan yang ada lebih panjang dan menyebar ke seluruh bagian kulit dinding dada, tulang rusuk dan otot dada, menimbulkan pembengkakan dan luka bernanah di payudara. Langkah yang dilakukan adalah pengangkatan payudara).
7. Stadium III C (pada stadium ini benjolan menyebar ke 10 titik pembuluh getah bening).

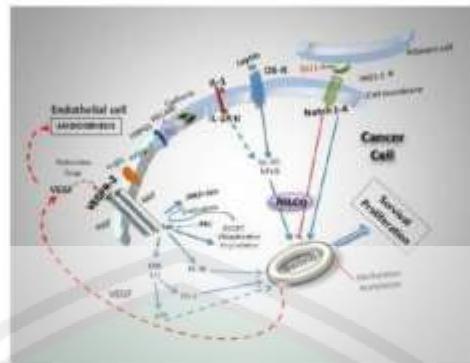
8. Stadium IV (kanker parah menjalar ke bagian tubuh lain).

2.7 Reseptor Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)

VEGF sebagai faktor proangiogenik berguna dalam angiogenesis yang menstimulasi pertumbuhan tumor, invasi dan metastase tumor (Agulnik, 2005). Pembentukan pembuluh darah baru yang berasal dari pembuluh darah yang telah ada disebut dengan angiogenesis. Angiogenesis dibutuhkan dalam pembentukan organ baru serta untuk diferensiasi ketika embriogenesis, penyembuhan luka dan reproduksi wanita (Josko, 2000). Dalam kondisi patologi, angiogenesis ini dibutuhkan pada proses pertumbuhan tumor solid dan pada proses metastase. Tumor membutuhkan angiogenesis untuk tumbuh di atas ukuran 1-2 mm³ (Rosen, 2002). Angiogenesis digunakan untuk menyuplai oksigen, nutrien, hormon dan faktor pertumbuhan, enzim proteolitik, mempengaruhi faktor hemostatik yang mengontrol koagulasi dan sistem fibrinolitik, dan penyebaran sel tumor ke tempat yang jauh dari asalnya. Kompleksnya proses angiogenesis karena diregulasi ketat oleh faktor proangiogenik (VEGF) dan faktor antiangiogenik. Ekspresi VEGF dalam sel-sel tumor distimulasi oleh hipoksia, onkogen (ras) dan inaktivasi gen supresor tumor (p53) dan oleh berbagai sitokin. Aktivasi VEGF membuat jaringan sinyal yang multipel yang menghasilkan *survival* sel endotel, mitogenesis, migrasi, diferensiasi dan permeabilitas vaskular serta mobilisasi sel-sel progenitor endotel dari sumsum tulang ke sirkulasi perifer. Ekspresi berlebih VEGF telah dihubungkan dengan perkembangan tumor dan dugaan buruk dalam berbagai macam tumor, termasuk karsinoma kolorektal, karsinoma lambung, karsinoma pankreas, kanker payudara, kanker paru dan melanoma, acute myeloid leukemia, karsinoma hepar

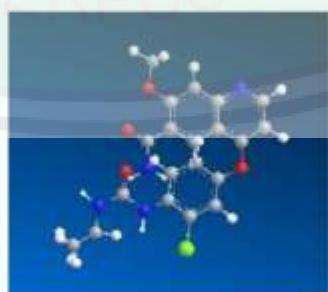
dan kanker ovarium (Hicklin, 2005). Karena peran sentralnya dalam angiogenesis tumor, jalur VEGF/VEGFR telah menjadi fokus utama riset dasar dan pengembangan obat-obatan di bidang onkologi. Dari beberapa penelitian telah disimpulkan kombinasi anti VEGF dengan kemoterapi atau radioterapi menghasilkan efek antitumor yang lebih baik daripada pemberian kemoterapi/radioterapi sendiri (Ferrara, 2004).

VEGFR-2 adalah reseptor memiliki ikatan antara VEGF dengan reseptor *thyrosin-kinase*. VEGF berperan penting untuk menstimulasi *endotelial cell survival* pada pembuluh darah yang baru terbentuk. VEGF memberikan stimulator yang kuat untuk pembelahan diri sel endotel dan produksi serta migrasi aktivator plasminogen yang dibutuhkan untuk degradasi matriks ekstraselular (Keman, 2014). VEGFR-2 mengendalikan ekspresinya pada proses angiogenesis dan karsinogenis. Regulasi dari ekspresi VEGFR-2 melibatkan serangkaian mekanisme yang kompleks diantaranya perubahan epigenik, regulasi transkripsi, *cellular localizaiton* dan *trafficking*, pengikatan ligan, aktivitas co-aktivator, ekspresi molekul adhesi, jalur turunan pensinyalan *constitutive-embryonic* dan regulasi *cytokine growth factor* (Gambar 2.4) (Guo *et al.*, 2012).

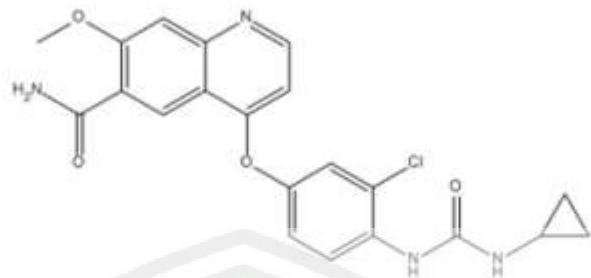


Gambar 2.4 Mekanisme jalur pensinyalan *Vascular endothelial growth factor receptor-2* (Guo et al., 2012).

Salah satu obat antiangiogenesis ialah lenvatinib. Lenvatinib menghambat beberapa RTK yang menargetkan reseptor VEGF (VEGFR1-3), reseptor FGF (FGFR1-4), reseptor PDGF α (PDGFR α), KIT, dan RET. Selain aktivitas antiangiogenesis berdasarkan penghambatan VEGFR2, lenvatinib juga menunjukkan aktivitas antitumor berdasarkan penghambatan fosforilasi RET di PTC yang membawa gen fusi RET / PCT. Lenvatinib telah menunjukkan aktivitas antitumor terhadap berbagai jenis tumor, seperti DTC, MTC, melanoma, endometrium, dan hepatoseluler. Lenvatinib mempunyai formula C₂₁H₁₉C₁N₄O₄ dengan berat molekul 426.9 g/mol (Pubchem, 2019).



Gambar 2.5 Struktur 3 dimensi Lenvatinib



Gambar 2.6 Struktur 2 dimensi Lenvatinib

Kode reseptor yang digunakan pada penelitian kali ini ialah VEGF (3WZD). Struktur tiga dimensi *vascular endothelial growth factor* dengan kode protein (3WZD) sebagai protein reseptor antikanker payudara yang dapat diunduh dari situs *protein data bank* (PDB) <https://www.rcsb.org/structure/3wzd>. Kode tersebut dipilih karena memiliki ligand native yang sama dengan obatnya yaitu lenvatinib. Lenvatinib dipilih karena dapat menghambat VEGFR. Kode VEGF (3WZD) berisikan ligan lenvatinib dan VEGF. Berikut merupakan tabel klasifikasi dari reseptor VEGF (3WZD):

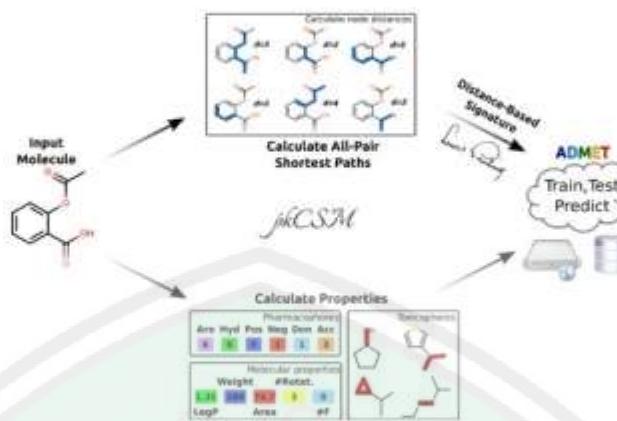
Tabel 2.3 Klasifikasi Reseptor VEGF (3WZD) dalam *Protein Data Bank*

Molekul			<i>Vascular endothelial growth factor receptor 2</i>
Rantai molekul			A
Organisme			<i>Homo sapiens</i>
Sistem Ekspresi			<i>Spodoptera frugiperda</i>
Mutasi			Y _a
Berat Molekul			36,82 kDa
Jumlah atom			2554
Jumlah residu			278
Rantai protein unik			1
Ligand	LEV	Nama Ligand	(4-[3-chloro-4-(cyclopropylcarbamoylamino)phenoxy]-7-methoxyquinoline-6-carboxamide)
		Formula	C ₂₁ H ₁₉ Cl N ₄ O ₄
Ligand			

		Rantai	A
DTT	Nama Ligand	<i>2,3-Dihydroxy-1,4-Dithiobutane</i>	
	Formula	$C_4 H_{10} O_2 S_2$	
	Ligand		
SO4	Rantai	A	
	Nama Ligand	<i>Sulfate Ion</i>	
	Formula	$O_4 S$	
GOL	Ligand		
	Rantai	A	
	Nama Ligand	<i>Glycerol</i>	
EDO	Formula	$C_3 H_8 O_3$	
	Ligand		
	Rantai	A	
Obat		Lenvatinib	

2.8 Tinjauan Hukum Lima Lipinski

Menurut Lipinski *et al.* (1997), dimana dia telah berhasil menganalisis data dasar *world drugs index* sebanyak 2.245 obat. Kesimpulan dari analisis tersebut mencetuskan hukum Lima Lipinski karena semua nilainya adalah kelipatan lima, yaitu ketika senyawa memiliki $BM > 500$, $\log P > +5$, $HBD > 5$, $HBA > 10$ maka senyawa tersebut akan sulit diabsorpsi dan memiliki permeabilitas yang rendah. Prediksi sifat fisikokimia seperti BM, torsion, HBA, HBD, dan PSA menggunakan aplikasi *pkCSM tool*. Adapun mekanisme kerja aplikasi *pkCSM tool* dapat dilihat pada gambar 2.7 (Hardjono, 2016).



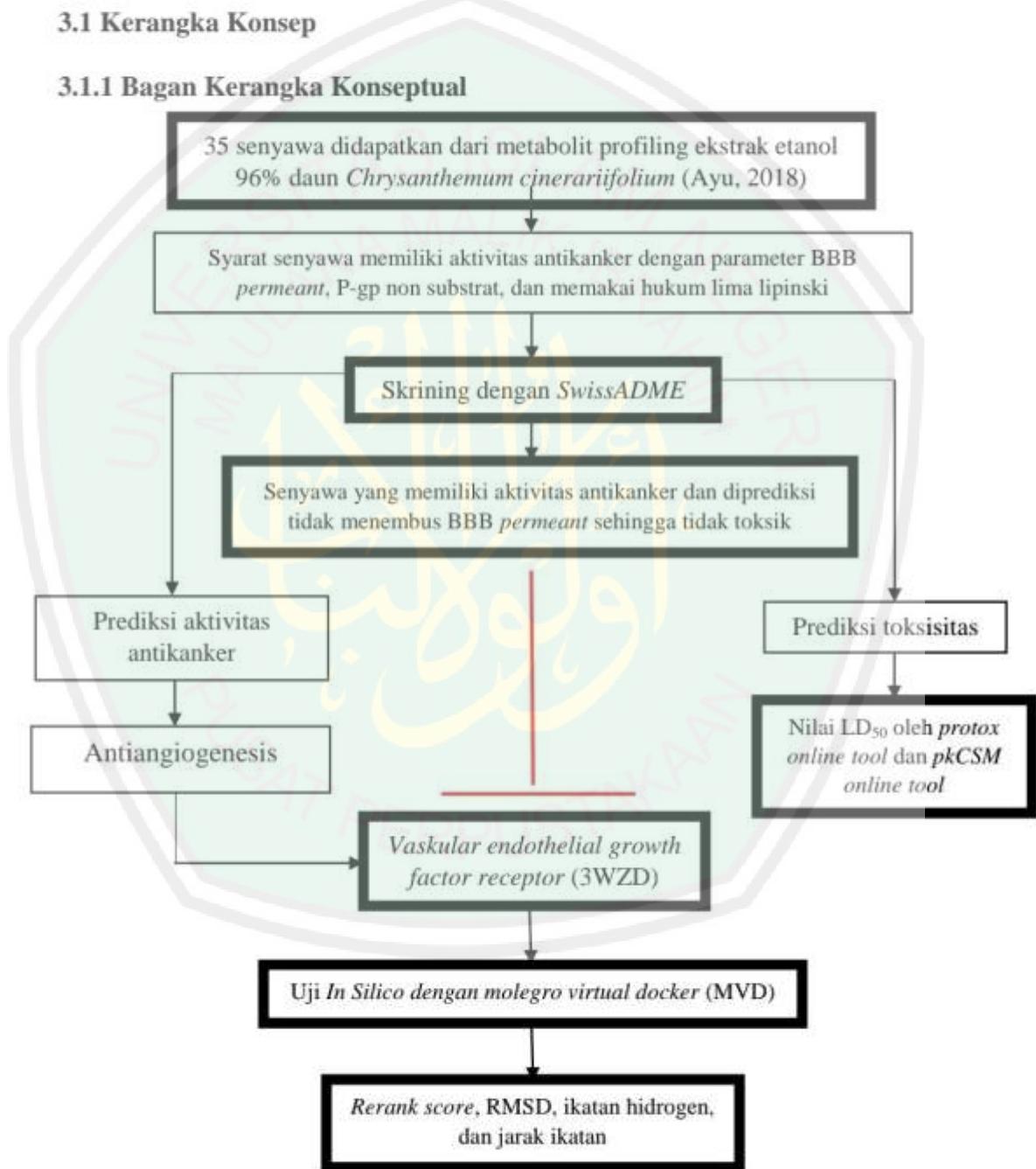
Gambar 2.7 Mekanisme kerja *pkCSM tool* (Pires *et al.*, 2015)

BAB III

KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep

3.1.1 Bagan Kerangka Konseptual



Gambar 3.1. Bagan kerangka konsep

Keterangan :



: Diteliti



: Tidak Diteliti



: Memicu



: Menghambat

3.1.2 Uraian Kerangka Konseptual

Penelitian yang telah dilakukan oleh Ayu (2018), menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% daun *Chrysanthemum cinerariifolium* memiliki 35 senyawa yang mempunyai aktivitas sebagai antikanker. Pada penelitian ini sebelum melakukan skrining, terlebih dahulu mengubah nama senyawa menjadi strukturnya dengan menggunakan aplikasi *chem bio draw ultra* versi 12 dan *chem bio 3D ultra* versi 12. Untuk memprediksi sifat fisikokimia digunakan *SMILES untuk mengetahui kode senyawa dan dimasukkan pada aplikasi *SwissADME* sehingga dapat diketahui sifat dari senyawa tersebut, seperti absorbsinya di gastrointestinal (*GI absorption*), menembus sawar darah otak (*BBB permeant*), *P-gp substrat*, berat molekul (BM), logaritma koefisien partisi oktanol/air (Log P), *hydrogen bond acceptors* (HBA), *hydrogen bond donors* (HBD), dan jumlah ikatan antar atom yang dapat berotasi (*torsion*). Dari hasil tersebut maka akan diketahui senyawa mana yang layak untuk dilakukan *docking*.

Hasil skrining akan dilanjutkan dengan *docking molekuler* menggunakan aplikasi *molegro virtual docker* dan digunakan reseptor *vascular endothelial growth factor* yang memiliki kode protein 3WZD. Penyiapan reseptor tersebut dilakukan dengan mengunduh pada situs online *protein data bank* (PDB) melalui

<http://www.rscb.org> dengan kode 3WZD. Selanjutnya dilakukan *docking* dari ligan terhadap reseptor tersebut. Perbedaan tempat reseptor akan menimbulkan interaksi dan afinitas yang berbeda yang ditandai dengan ikatan hidrogen, interaksi dengan asam amino pada reseptor dan ikatan sterik serta energi ikatan yang digambarkan dengan nilai *rerank score (RS)*. Untuk mengetahui toksisitas senyawa akan dikategorikan berdasarkan nilai LD₅₀, *ames toxicity* dan *hepatotoxicity*.

3.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka konsep diatas dapat dirumuskan hipotesis sebagai berikut:

1. Terdapat senyawa diantara 35 senyawa hasil *metabolit profiling* oleh Ayu (2018) dalam ekstrak etanol 96% daun *Chrysanthemum cinerariifolium* yang memenuhi hukum lima lipinski dalam skrining menggunakan aplikasi SwissADME.
2. Terdapat senyawa dari hasil *metabolit profiling* oleh Ayu (2018) dalam ekstrak etanol 96% daun *Chrysanthemum cinerariifolium* yang memiliki aktivitas terhadap reseptor *vascular endothelial growth factor (3WZD)*.
3. Terdapat senyawa hasil skrining dari hasil *metabolit profiling* oleh Ayu (2018) dalam ekstrak etanol 96% daun *Chrysanthemum cinerariifolium* yang memiliki toksisitas rendah berdasarkan *protox online tool* dan *pkCSM tool*.

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 pada uji *in silico* dari senyawa yang terdapat didalam ekstrak etanol 96% daun *Chrysanthemum cinerariifolium* terhadap reseptor *vascular endothelial growth factor* (VEGF) menggunakan aplikasi *chem bio draw ultra* versi 12, *chem bio 3D ultra* versi 12, *SwissADME*, dan *molegro virtual docker 6.0, protox online tool* dan *pkCSM tool*.

4.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Gedung Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang pada bulan Desember 2019 s.d. Mei 2020.

4.3 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.3.1 Variabel Penelitian

4.3.1.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah senyawa hasil *metabolit profilling* oleh Ayu (2018) pada ekstrak etanol 96% daun *Chrysanthemum cinerariifolium* yang memenuhi syarat untuk studi *in silico*.

4.3.1.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah nilai RMSD, afinitas (*rerank score*) dan interaksi (nilai *MolDockscore*) senyawa pada ekstrak etanol 96% daun *Chrysanthemum cinerariifolium* secara *in silico* terhadap reseptor *vascular endothelial growth factor*. Reseptor *vascular endothelial growth factor* yang digunakan memiliki kode 3WZD.

4.3.1.3 Variabel Kontrol

Variabel kontrol pada penelitian ini adalah *chem bio draw ultra* versi 12, *chem bio 3D ultra* versi 12 *SwissADME*, *molegro virtual docker* 6.0, *protox online tool*, dan *pkCSM tool*.

4.3.2 Definisi Operasional

1. Metode *in silico* merupakan suatu cara untuk mengembangkan obat baru yang bisa digunakan sebagai studi awal dan akan dilanjutkan dengan metode lain pada skala laboratorium (Rohmah, 2017).
2. *Molegro virtual docker* (MVD) merupakan suatu aplikasi yang digunakan untuk memprediksi cara ligan berinteraksi dengan makromolekul (CLCbio, 2013).
3. *BBB permeant* merupakan kemampuan senyawa menembus membran sawar otak berdasarkan sifat fisikokimia senyawa yang dimiliki senyawa tersebut.
4. *Rerank score* merupakan energi ikatan yang ditunjukkan melalui adanya jumlah energi yang dibutuhkan untuk membentuk ikatan antara ligan dan reseptor (Hardjono, 2016).

5. *Root mean square deviation* (RMSD) merupakan parameter yang digunakan untuk mengevaluasi kemiripan dua buah struktur. Kemiripan diukur berdasarkan perbedaan jarak atom sejenis (Ruswanto, 2017).
6. Ikatan hidrogen merupakan ikatan yang spesifik jarak dekat dan berinteraksi langsung dimana ikatannya terjadi antara atom hidrogen terikat secara kovalen dan atom elektronegatif (biasanya F,N,S atau O), dan sebuah atom elektronegatif tambahan. (Muchtaridi, 2018).
7. Ikatan sterik (*Van der Waal's*) merupakan kekuatan tarik menarik antar molekul atau atom yang tidak bermuatan, dan letaknya berdekatan. Ikatan ini terjadi karena sifat kepolaran molekul atom (Siswandono, 2016).

4.4 Alat dan Bahan Penelitian

4.4.1 Alat Penelitian

Perangkat yang digunakan pada penelitian ini adalah perangkat keras berupa laptop dengan spesifikasi *Processor* tipe *Intel® Core™ i3 Inside™* dengan perangkat lunak sistem operasi *Windows 7*, *chem bio draw ultra* versi 12, *chem bio 3D ultra* versi 12, *microsoft office excel 2013*, *SwissADME*, *molegro virtual docker 6.0*, *protox Online tool*, dan *pkCSM tool*.

4.4.2 Bahan Penelitian

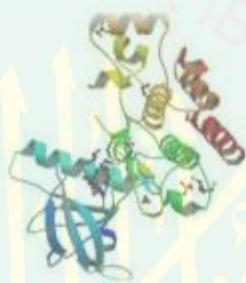
4.4.2.1 Senyawa Uji Hasil *Metabolit Profiling UPLC-QTOF-MS/MS* Ekstrak Etanol 96% Daun *Chrysanthemum cinerariifolium*

Senyawa uji yang digunakan dalam penelitian ini yaitu struktur dari 35 senyawa hasil *metabolit profiling* UPLC-QTOF-MS/MS oleh Ayu (2018) ekstrak etanol

96% daun *Chrysanthemum cinerariifolium*. Digambar strukturnya dengan aplikasi *chem bio draw ultra* versi 12, dan *chem bio 3D ultra* versi 12.

4.4.2.2. Reseptor Vascular Endothelial Growth Factor (3WZD)

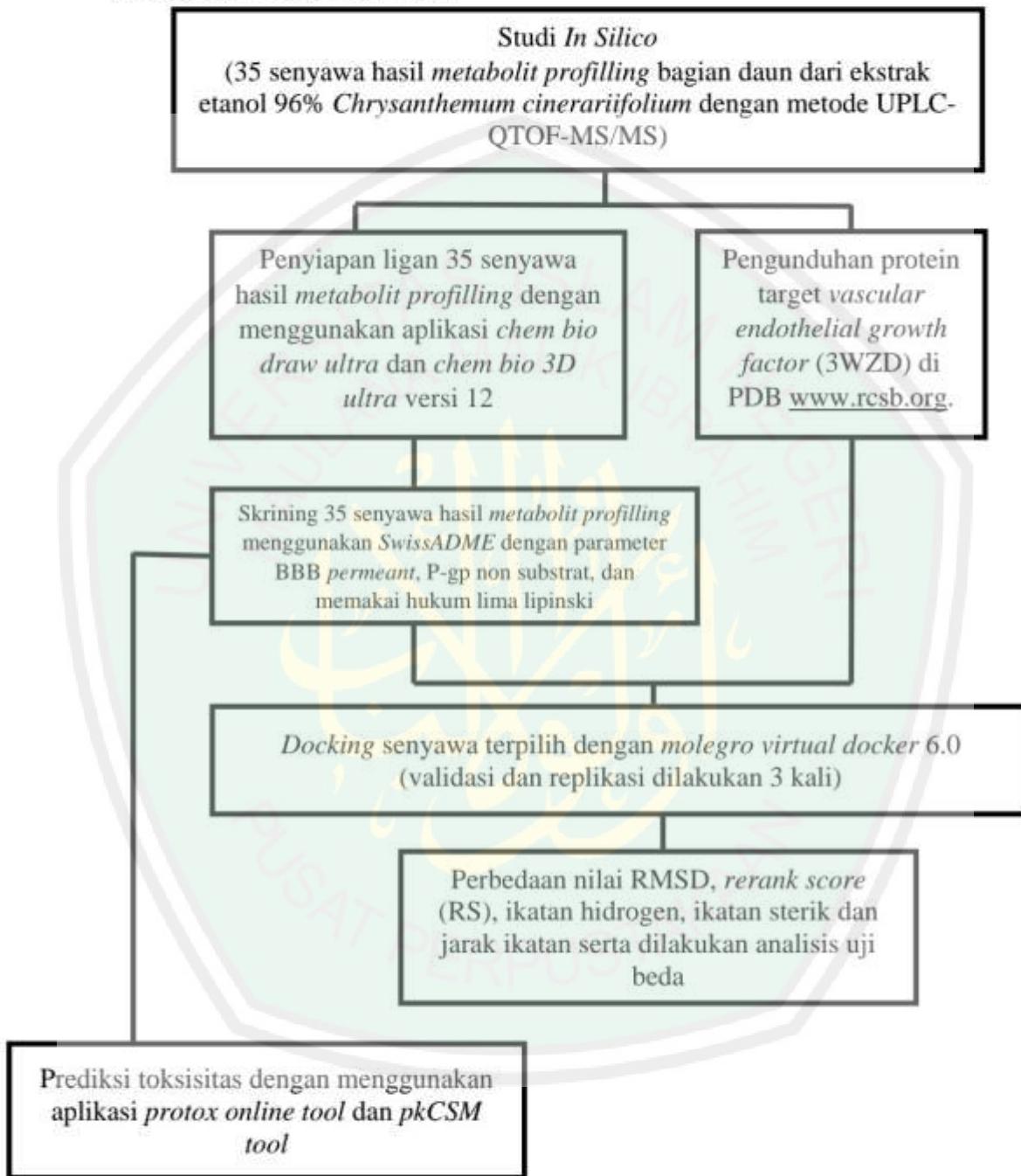
Struktur tiga dimensi *vascular endothelial growth factor* dengan kode protein (3WZD) sebagai protein reseptor antikanker payudara yang dapat diunduh dari situs *protein data bank* (PDB) <https://www.rcsb.org/structure/3wzd>. Strukrur 3 dimensi dari VEGF (3WZD) dapat dilihat pada gambar 4.1.



Gambar 4.1 Struktur 3 dimensi *vascular endothelial growth factor* (3WZD)

4.5 Skema Kerja Penelitian dan Prosedur Penelitian

4.5.1 Skema Kerja Penelitian



Gambar 4.2 Skema kerja penelitian

4.5.2 Prosedur Penelitian

4.5.2.1 Preparasi Sampel *In Silico*

1. Ligan hasil uji *metabolite profiling* UPLC QToF MS/MS dipreparasi dengan digambar struktur molekul 2-D dengan program *chem bio draw ultra versi 12*, kemudian dibuat struktur 3-D dengan *chem bio 3D ultra versi 12*. Setelah itu dilakukan minimalisasi energi untuk melihat bentuk stereokimia senyawa memiliki potensi sebagai obat antikanker payudara dan bentuknya yang paling stabil dengan menekan **Calculations → MMFF94 → Perform MMFF94 Minimization**, lalu disimpan dalam bentuk mol2 {SYBYL2(*.mol2)}. Setelah disimpan kemudian dilakukan proses *docking* terhadap target reseptor.
2. Dilakukan skrining dengan menggunakan aplikasi *online SwissADME* dengan memasukkan code *SMILES* dari tiap-tiap senyawa, tujuannya untuk mencari senyawa yang memiliki potensi sebagai obat antikanker payudara ditentukan sesuai dengan sifat atau karakteristik obat Lenvatinib.
3. Preparasi protein reseptor dilakukan dengan menggunakan software *molegro virtual docker* 6.0. Pada tahap ini dilakukan eliminasi molekul air dan ligan referens serta penambahan atom hidrogen.

4.5.2.2 Penambatan Molekular Docking

Langkah dalam proses docking yaitu:

1. Mengunduh reseptor dari situs *protein data bank*. Reseptor yang diunduh adalah *vascular endothelial growth factor* (3WZD) harus mengandung ligan lenvatinib.

2. Menambahkan atom H pada reseptor (karena reseptor yang diunduh dihilangkan atom H-nya) dan memperbaiki protein reseptor yang diunduh. Hal ini biasanya dilakukan secara otomatis oleh program komputer.
3. Deteksi tempat pada reseptor dimana obat akan terikat (berinteraksi). Tempat tersebut berupa lubang-lubang (*cavities*) pada struktur reseptor.
4. Meletakkan struktur 3D senyawa kedalam lubang terpilih. Ada beberapa cara untuk meletakkan struktur senyawa dalam lubang, dalam program *molegro virtual docker* dilakukan dengan cara “*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.
5. Melihat gambaran (*view*) letak senyawa dalam lubang reseptor (*cavities*). Ada beberapa gambaran untuk melihat keadaan lingkungan senyawa, antara lain: gambaran hidrofobik (untuk melihat lingkungan hidrofobik senyawa), gambaran elektronik (untuk melihat lingkungan elektronik senyawa) serta gambaran ikatan H senyawa dan reseptor. Asam-asam amino yang terlibat pada proses interaksi obat-reseptor dan gugus-gugus farmakofor dapat dilihat dari gambaran ikatan H senyawa dan reseptor.
6. Melakukan *docking* senyawa pada reseptor, yang dilakukan secara otomatis oleh program *molegro virtual docker*. Ada beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam proses ini antara lain pemilihan senyawa yang di *docking* dan *cavity* dimana obat akan berinteraksi. Parameter yang diukur dalam proses *docking*, diantaranya nilai energi yang terlibat, berupa *molDock score*, *rerank score*, dan

H-bond. Untuk mengukur kekuatan ikatan obat dengan reseptor, parameter yang sering digunakan adalah nilai *rerank score* (CLCbio, 2013).

4.5.2.3 Prediksi Toksisitas Senyawa

Prediksi sifat toksisitas senyawa dengan digambar struktur molekul 2-D dengan program *chem bio draw ultra versi 12*, kemudian disalin (*copy*) pada program *chem bio 3D ultra versi 12* untuk membuat struktur 3-D. Kemudian senyawa yang sebagai kandidat kuat bahan obat diubah dalam bentuk format *SMILES*. Untuk memprediksi toksisitas (LD_{50}) per oral pada *rodent* digunakan *protox online tool* (http://tox.charite.de/protox_II/). Klasifikasi toksisitas senyawa berdasarkan nilai LD_{50} , *ames toxicity*, dan *hepatotoxicity* (Ruswanto dkk, 2017).

4.6 Analisis Data

Analisis data dari hasil *docking* dengan nilai *root mean square deviation* (RMSD), *rerank score* (RS), ikatan hidrogen, ikatan sterik, jarak ikatan, interaksi dengan asam amino dan dibandingkan aktivitas antara reseptor *vascular endothelial growth factor* dengan senyawa yang berpotensi sebagai antikanker pada ekstrak etanol 96% daun *Chrysanthemum cinerariifolium*. Analisis data prediksi sifat fisikokimia dengan mengetahui berat molekul (BM), jumlah ikatan antar atom yang dapat berotasi (torsion), HBA (*hydrogen bond acceptors*), dan HBD (*hydrogen bond donor*). Analisis data toksisitas senyawa tersebut dengan dikategorikan berdasarkan nilai LD_{50} dan ditentukan kelas toksisitasnya, menggunakan *protox online tool* dan *pkCSM tool*.

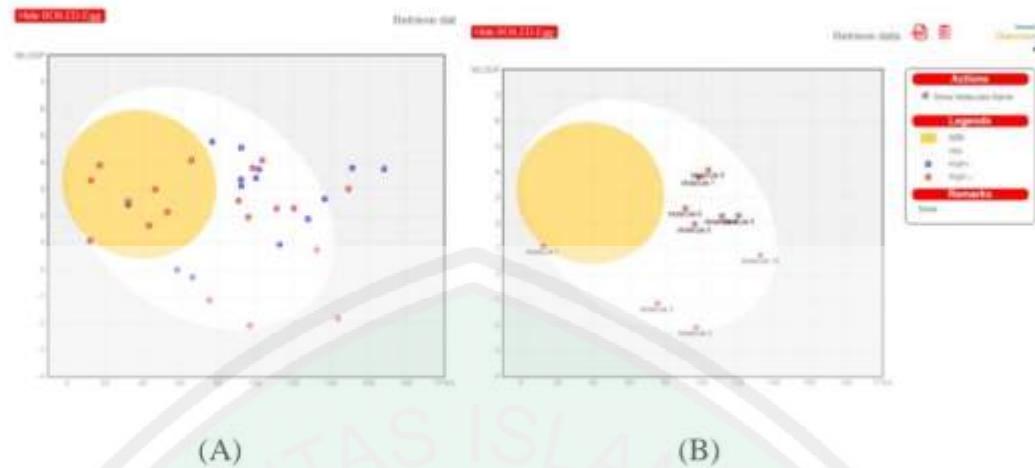
BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Skrining dan Prediksi Fisikokimia Senyawa

Sampel yang digunakan pada penelitian kali ini yaitu 35 senyawa hasil dari *metabolite profiling* UPLC-QToF-MS/MS oleh Ayu (2018) dalam ekstrak etanol 96% daun *Chrysanthemum cinerariifolium*. Program atau aplikasi yang digunakan untuk skrining senyawa pada penelitian ini yaitu *SwissADME*. Menurut Daine *et al* (2016), *SwissADME* dipilih karena mampu menampilkan hasil prediksi dari banyak senyawa kemudian memberikan rangkuman analisis sehingga lebih mudah dalam tahapan analisis maupun pemilihan senyawa inklusi. Di dalam *SwissADME* terdapat tampilan *Boiled-Egg* yang dapat memberikan gambaran sederhana prediksi kemampuan terabsorpsinya suatu senyawa sehingga menembus sawar darah otak (*Blood Brain Barrier*) dan untuk mengetahui sifat P-gp dari suatu senyawa.

Parameter yang digunakan untuk skrining senyawa pada penelitian ini yaitu tidak menembus sawar otak, memenuhi hukum lima Lipinski, dan P-gp non-substrat. Sebelum dilakukan skrining *in silico*, 35 senyawa hasil dari *metabolite profiling* UPLC-QToF-MS/MS oleh Ayu (2018) dalam ekstrak etanol 96% daun *Chrysanthemum cinerariifolium* digambar terlebih dahulu menggunakan program *chem bio draw ultra versi 12.0*. Setelah itu masing-masing *code SMILES* senyawa tersebut disalin (*copy*) pada program *SwissADME*. Hasil skrining senyawa melalui *Boiled-Egg* dapat dilihat pada gambar 5.1.



Gambar 5.1 (A) Hasil skrining 35 senyawa dengan *SwissADME*
 (B) Hasil 10 senyawa yang lulus skrining dengan *SwissADME*

Keterangan:

Putih	: probabilitas tinggi pada penyerapan saluran pencernaan
Kuning	: probabilitas tinggi pada penetrasi otak
Coding biru (P-gp +)	: P-gp substrat
Coding merah (P-gp -)	: P-gp non-substrat

Berdasarkan gambar 5.1, menunjukkan bahwa dari 35 senyawa terdapat 10 senyawa yang lulus skrining. Parameter kemampuan senyawa dalam menembus sawar otak menjadi pertimbangan karena dapat mengurangi efek samping dan toksisitas serta dapat meningkatkan khasiat obat yang aktivitas farmakologisnya ada di dalam otak (Pires *et al.*, 2015). Pada penelitian ini diharapkan senyawa memiliki aktivitas farmakologis pada kanker payudara untuk menghambat reseptor *vascular endothelial growth factor* sehingga dipilihlah senyawa yang tidak dapat menembus sawar otak. Parameter ini pada program *SwissADME* ditunjukkan dengan hasil "No" pada *BBB Permeant*, sedangkan pada *Boiled Egg* (gambar 5.1) ditunjukkan dengan letak senyawanya di luar bundaran kuning telur (Daina *et al.*, 2016).

Parameter selanjutnya yaitu P-gp, yaitu anggota dari superfamili transporter ATP *binding cassette* (ABC), yang menentukan berbagai penyerapan dan penembusan obat. Transporter berperan penting dalam disposisi obat. *Eflux* dan transporter bekerja untuk mengendalikan bioavailabilitas obat (Jeong, 2006; Finch A, 2014). Transporter *influx* dan *eflux* telah diteliti berada di saluran pencernaan, yang mempunyai fungsi yaitu meningkatkan atau menurunkan absorpsi obat. Substrat P-gp merupakan senyawa dengan sifat hidrofobik, sehingga P-gp dalam sistem pencernaan dapat mempengaruhi absorpsi beberapa obat (Zhou, 2010).

P-gp mempengaruhi ADME obat dalam sistem organ (Matheny *et al.*, 2001). Aktivitas P-gp bergantung pada ATP melalui pembentukan P-gp-ATP. Dihambatnya aktivasi dan ekspresi P-gp berperan penting dalam keberhasilan terapi kanker (Zhou, 2010). Penghambatan aktivitas P-gp dapat melalui beberapa mekanisme, antara lain penghambatan substrat P-gp secara langsung dengan berikatan pada Pgp-*binding domain* dan penghambatan hidrolisis ATP oleh ATP-ase melalui ikatan substrat dengan ATP. Penghambatan ini dapat dilakukan menggunakan senyawa flavonoid dan polifenol melalui dua sisi ikatan pada ATP-*binding sites* dan *steroid interacting region* dimana ATP-ase berikatan dengan P-gp *cytosolic domain* (Kitagawa, 2006). Pada program SwissADME parameter P-gp substrat ditunjukkan dengan hasil "No" pada *P-gp substrate*, sedangkan pada *Boiled Egg* (gambar 5.1) ditunjukkan *coding* berwarna merah (P-gp -) (Daina *et al.*, 2016).

Obat pembanding pada penelitian ini yaitu lenvatinib dengan nama IUPAC *4-[3-chloro-4-(cyclopropylcarbamoylamino) phenoxy] - 7-methoxyquinoline - 6 -*

carboxamide. Hasil lenvatinib pada SwissADME melalui *Boiled-Egg* ditunjukkan pada gambar 5.2.

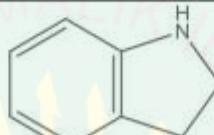
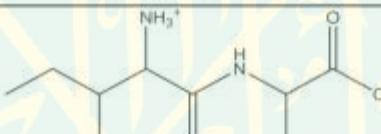
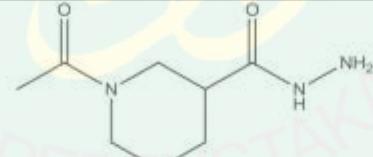
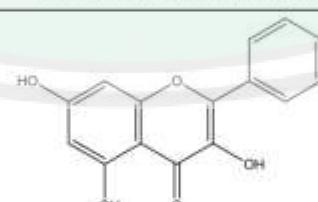


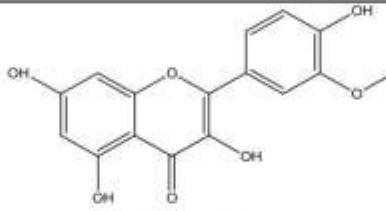
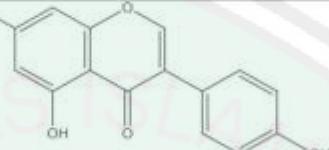
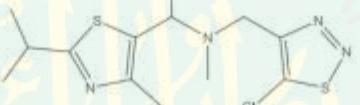
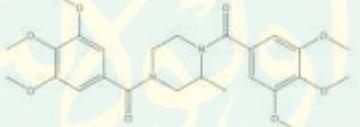
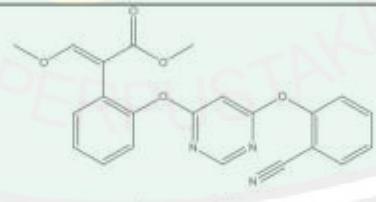
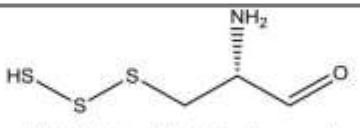
Gambar 5.2 Profil Lenvatinib pada SwissADME

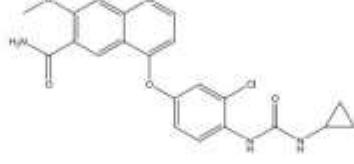
Berdasarkan gambar 5.2, dapat dilihat bahwa lenvatinib memiliki absorpsi yang tinggi terhadap saluran pencernaan dan memiliki sifat P-gp substrat. Hal ini dikarenakan lenvatinib yang diberikan secara oral mengalami metabolisme hati yang luas dan kemudian mengalami ekskresi bilier. Pada manusia, jalur utama dalam biotransformasi lenvatinib dikatalis sebagian besar oleh enzim sitokrom P450 (CYP450), khususnya enzim 3A4. Biotransformasi yang dimediasi oleh CYP3A4 dan *eflux* aktif obat terserap oleh P-gp merupakan penentu utama bioavaibilitas obat oral. Hal ini karena CYP3A4 dan P-gp bekerja secara sinergis untuk membatasi bioavaibilitas terhadap obat yang diberikan secara oral (Tandon *et al.*, 2006). Penyebab utama bioavaibilitas yang rendah pada lenvatinib, diantaranya *first-pass metabolism* di usus atau di hati dan *efluks* yang dimediasi P-gp di usus. Menurut Ozeki, *et al.* (2019), C_0 dari lenvatinib secara signifikan dipengaruhi oleh CYP3A4 polimorfisme. P-gp berkontribusi pada penyerapan dan disposisi lenvatinib. Jika konsentrasi plasma target lenvatinib untuk kemanjuran

atau toksisitas ditentukan, penjelasan rincian genotip CYP3A4 * 1G dapat memfasilitasi pengambilan keputusan terkait dengan dosis lenvatinib awal yang tepat untuk mencapai konsentrasi plasma yang optimal. Nama dan *code SMILES* senyawa yang lulus skrining serta senyawa pembandingnya dapat dilihat pada tabel 5.1.

Tabel 5.1 Profil *code SMILES* dan molekul 10 senyawa yang lulus skrining beserta senyawa pembanding

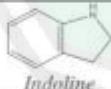
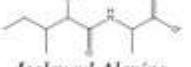
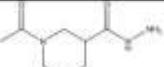
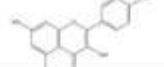
Molecule	Golongan	Nama Senyawa	code SMILES
Molecule 1	Alkaloid Indole	 <i>Indoline</i> <i>(2,3-dihydro-1H-indole)</i>	C12=C(NCC2)C=CC=C1
Molecule 2	Peptida	 <i>Isoleucyl-Alanine</i> <i>((2S)-2-[(2S,3S)-2-amino-3-methylpentanoyl]amino)propanoic acid</i>	[C][C@H](C(O)=O)NC([C@H]([C@@H](C)CC)N)=O
Molecule 3	Alkaloid	 <i>1-Acetyl-3-piperidinecarbohydrazide</i>	O=C(C1CN(C(C)=O)CCCC1)NN
Molecule 4	Flavonol	 <i>Kaempferol</i> <i>(3,5,7-trihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chromen-4-one)</i>	OC1=C(C2=CC=C(O)C=C2)OC3=C(C(O)=CC(O)=C3)C1=O

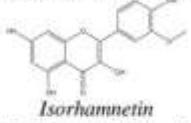
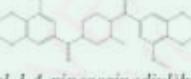
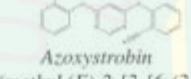
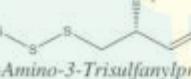
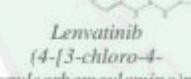
Molecule 5	Flavonoid	 <p><i>Isorhamnetin</i> (3,5,7-trihydroxy-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)chromen-4-one)</p>	<chem>O=C1=C(C2=CC(OC)=C(O)C=C2)OC3=CC(O)=CC(O)=C3C1=O</chem>
Molecule 6	Flavonoid	 <p><i>Genistein</i> (5,7-dihydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)chromen-4-one)</p>	<chem>O=C1C(C2=CC=C(O)C=C2)=COC3=C1C(O)=CC(O)=C3</chem>
Molecule 7	Amina	 <p><i>N-[{5-Chloro-1,2,3-thiadiazol-4-yl}methyl]-1-(2-isopropyl-4-methyl-1,3-thiazol-5-yl)-Nmethylethanamine</i></p>	<chem>CC(N(CC1=C(Cl)SN=N1)C)C2=C(C)N=C(C(C)C)S2</chem>
Molecule 8	Alkaloid	 <p><i>(2-Methyl-1,4-piperazinediyl)bis[3,4,5-trimethoxyphenyl]methanone</i></p>	<chem>CC1N(C(C2=CC(OC)=C(OC)C(OC)=C2)=O)CCN(C(C3=CC(OC)=C(OC)C=CC=C3)C(OC)=C3)=O)C1</chem>
Molecule 9	Turunan Benzen	 <p><i>Azoxystrobin</i> (methyl (E)-2-{2-[6-(2-cyanophenoxy)pyrimidin-4-yl]oxyphenyl}-3-methoxyprop-2-enoate)</p>	<chem>N#CC(C=CC=C1)C1OC2=CC(OC3=C(C(C(OC)=O)=C(OC)C=CC=C3)C(OC)=C3)=O)C2=C(C)N=C2</chem>
Molecule 10	Amina	 <p><i>(2R)-2-Amino-3-Trisulfanylpropanal</i></p>	<chem>O=C[C@H](N)CSSS</chem>

Obat pembanding	-	 <p>Lenvatinib (4-<i>t</i>3-chloro-4-(cyclopropylcarbamoylamino)phenoxy)-7-methoxyquinoline-6-carboxamide)</p>	$O=C(C1=C(OC)C=C2N=CC=C(OC3=CC=C(NC(NC4CC4)=O)C(Cl)=C3)C2=Cl)N$
--------------------	---	---	---

Parameter lain yang penting dalam pengembangan obat yaitu prediksi fisikokimia dari suatu senyawa, dimana prediksi tersebut berdasarkan hukum lima Lipinski (Hardjono, 2013). Hukum ini memprediksi suatu kemiripan obat dari senyawa kimia dengan aktivitas biologis tertentu yang dirancang untuk pemberian dengan rute oral. Pada program *SwissADME* senyawa yang memenuhi hukum ini ditunjukkan dengan hasil “Yes; 0 violation” pada *Lipinski* (Daina *et al.*, 2016). Hasil prediksi sifat fisikokimia ditunjukkan pada tabel 5.2.

Tabel 5.2 Hasil penentuan sifat fisikokimia berdasarkan hukum lima Lipinski terhadap senyawa yang lulus skrining dan lenvatinib dengan aplikasi *SwissADME*

Nama Senyawa	Parameter hukum lima Lipinski						Penerapan hukum lima Lipinski
	BM (g/mol)	Log P	HBA	HBD	TPSA (Å)	Torsion	
 <p><i>Indoline</i> (2,3-dihydro-1H-indole)</p>	119,16	1,73	0	1	12,03	0	Ya
 <p><i>Isoleucyl-Alanine</i> (<i>(2S)-2-[(2S,3S)-2-amino-3-methylpentanoyl]amino</i>propanoic acid)</p>	202,25	-0,37	4	3	92,42	6	Ya
 <p><i>1-Acetyl-3-piperidinecarbohydrazide</i></p>	185,22	-0,47	3	2	75,43	3	Ya
	286,24	1,58	6	4	111,13	1	Ya

<i>Kaempferol</i> (3,5,7-trihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chromen-4-one)								
 <i>Isorhamnetin</i> (3,5,7-trihydroxy-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)chromen-4-one)	316,26	1,65	7	4	120,36	2		Ya
 <i>Genistein</i> (5,7-dihydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)chromen-4-one)	270,24	2,04	5	3	90,90	1		Ya
 <i>N-[{5-Chloro-1,2,3-thiadiazol-4-yl}methyl]-1-(2-isopropyl-4-methyl-1,3-thiazol-5-yl)-Nmethyllethanamine</i>	330,90	3,59	4	0	98,39	5		Ya
 <i>(2-Methyl-1,4-piperazinediyil)bis[3,4,5-trimethoxyphenyl]methanone</i>	488,53	2,41	8	0	96,00	10		Ya
 <i>Azoxystrobin</i> (methyl (E)-2-{2-[6-(2-cyanophenoxy)pyrimidin-4-yl]oxyphenyl}-3-methoxyprop-2-enoate)	403,39	2,97	8	0	103,56	8		Ya
 <i>(2R)-2-Amino-3-Trixulfanylpropanal</i>	169,29	0,34	2	1	132,49	4		Ya
 <i>Lenvatinib</i> (4-[3-chloro-4-(cyclopropylcarbamoylamoino)phenoxy]-7-methoxyquinoline-6-carboxamide)	426,85	2,88	5	3	15,57	8		Ya

Keterangan:

BM : Berat molekul <500

Σ HBD : Jumlah atom OH dan NH <5

Log P : Koefisien partisi <5

Σ HBA : Jumlah atom O dan N <10

Torsion : Ikatan H yang dapat berotasi ≤10

TPSA : Topological polar surface area ≤140Å

Berdasarkan tabel 5.2 diatas, senyawa yang lulus skrining memiliki berat molekul ≤500 g/mol, log P ≤5, jumlah ikatan-H donor ≤5, ikatan-H aseptor ≤10, nilai torsion ≤10 dan nilai TPSA ≤140Å. Sehingga dari seluruh senyawa tersebut memenuhi hukum lima Lipinski dan dapat diprediksi bahwa senyawa tersebut mudah untuk diabsorbsi, memiliki permeabilitas yang baik, dan mempunyai

bioavailabilitas oral yang baik. Dilakukan juga prediksi sifat fisikokimia terhadap lenvatinib, didapatkan senyawa tersebut memenuhi hukum lima Lipinski. Selanjunya adalah mengetahui prediksi Absorbsi, Distribusi, Metabolisme, dan Ekskresi dari 10 senyawa diantara 35 senyawa hasil *metabolit profilling* oleh Ayu (2018) dalam ekstrak etanol 96% daun *Chrysanthemum cinerariifolium* dengan menggunakan aplikasi *pkCSM online tool* yang dapat dilihat pada tabel 5.3.

Tabel 5.3 Hasil Prediksi ADME dengan menggunakan aplikasi *pkCSM online tool*

Prediksi		Senyawa			
		<i>Indoline</i> (2,3-dihydro-1H-indole)	<i>Isoleucyl-Alanine</i> (<i>(2S)-2-[(2S,3S)-2-amino-3-methylpentanoyl]aminopropanoic acid</i>)	<i>1-Acetyl-3-piperidinecarboxyhydrazide</i>	<i>Kaempferol</i> (3,5,7-trihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chromen-4-one)
Absorbsi	Kelarutan dalam air (Log mol/L)	-1,831	-0,789	-1,344	-3,016
	Permeabilitas Caco2 (Log Papp in 10 ⁻⁶ cm/s)	1,437	-0,245	0,569	0,359
	Absorbsi pada usus (%)	94,341	49,646	66,309	79,137
	Permeabilitas pada kulit (Log kp)	-1,704	-2,792	-4,22	-2,739
	p-glycoprotein substrat	Tidak	Tidak	Ya	Ya
	p-glycoprotein I inhibitor	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
	p-glycoprotein II inhibitor	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Distribusi	Vdss (Log L/kg)	0,321	-0,675	-0,451	-0,231
	Fraksi tidak terikat (Fu)	0,447	0,836	0,742	0,174
	Permeabilitas BBB (Log BBB)	-0,434	-0,701	-0,805	-1,236
	Permeabilitas CNS (Log PS)	-1,742	-3,481	-3,489	-2,382
Metabolisme	CYP2D6 Substrat	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
	CYP3A4 Substrat	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
	CYP1A2 Inhibitor	Ya	Tidak	Tidak	Ya
	CYP2C19 Inhibitor	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
	CYP2C9 Inhibitor	Tidak	Tidak	Tidak	Ya
	CYP2D6 Inhibitor	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
	CYP3A4 Inhibitor	Tidak	Tidak	Tidak	Ya
Eksresi	Klirens Total (Log ml/min/kg)	0,263	0,274	0,678	0,556
	Renal OCT2 Substrat	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Prediksi		Senyawa			
		<i>Isorhamnetin</i>	<i>Genistein</i>	<i>N-[5-Chloro-1,2,3-thiadiazol-4-</i>	<i>(2-Methyl-1,4-piperazinediyil)bis</i>

		(3,5,7-trihydroxy-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)chromen-4-one)	(5,7-dihydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)chromen-4-one)	yl)methyl]-1-(2-isopropyl-4-methyl-1,3-thiazol-5-yl)-Nmethylethanamine	l(3,4,5-trimethoxyphenyl)methanone]
Absorbsi	Kelarutan dalam air (Log mol/L)	-3,232	-3,208	-4,428	-4,674
	Permeabilitas Caco2 (Log Papp in 10 ⁻⁶ cm/s)	0,505	-1,146	1,613	0,8
	Absorbsi pada usus (%)	78,801	92,893	89,862	54,183
	Permeabilitas pada kulit (Log kp)	-2,737	-2,736	-2,946	-2,832
	p-glycoprotein substrat	Ya	Ya	Tidak	Ya
	p-glycoprotein I inhibitor	Tidak	Tidak	Tidak	Ya
	p-glycoprotein II inhibitor	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
Distribusi	Vdss (Log L/kg)	0,027	-0,39	0,408	0,067
	Fraksi tidak terikat (Fu)	0,16	0,144	0,338	0,073
	Permeabilitas BBB (Log BBB)	-1,326	-1,023	0,295	-0,84
	Permeabilitas CNS (Log PS)	-3,325	-2,221	-2,699	-2,905
Metabolisme	CYP2D6 Substrat	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
	CYP3A4 Substrat	Tidak	Tidak	Ya	Ya
	CYP1A2 Inhibitor	Ya	Ya	Ya	Tidak
	CYP2C19 Inhibitor	Tidak	Ya	Tidak	Tidak
	CYP2C9 Inhibitor	Tidak	Ya	Tidak	Tidak
	CYP2D6 Inhibitor	Tidak	Ya	Ya	Tidak
	CYP3A4 Inhibitor	Ya	Ya	Tidak	Ya
Eksresi	Klirens Total (Log ml/min/kg)	0,602	0,236	0,829	0,778
	Renal OCT2 Substrat	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak

Prediksi	Senyawa			
	Azoxystrobin (methyl (E)-2-[2-{6-(2-cyanophenoxy)pyrimidin-4-yl}oxypyhenyl]-3-methoxyprop-2-enoate)	(2R)-2-Amino-3-Trisulfanylpropanal	Lenvatinib (4-[3-chloro-4-(cyclopropylcarbamoylamino)phenoxy]-7-methoxyquinoline-6-carboxamide)	
Absorbsi	Kelarutan dalam air (Log mol/L)	-4,992	-0,459	-3,376
	Permeabilitas Caco2 (Log Papp in 10 ⁻⁶ cm/s)	1,333	1,232	0,031
	Absorbsi pada usus (%)	91,406	95,663	88,883
	Permeabilitas pada kulit (Log kp)	-2,743	-2,986	-2,735
	p-glycoprotein substrat	Tidak	Ya	Ya
	p-glycoprotein I inhibitor	Ya	Tidak	Ya
	p-glycoprotein II inhibitor	Ya	Tidak	Ya
	Vdss (Log L/kg)	-0,537	-0,101	0,304
	Fraksi tidak terikat (Fu)	0	0,792	0

Distribusi	Permeabilitas BBB (Log BBB)	-1,223	-0,31	-1,342
	Permeabilitas CNS (Log PS)	-3,303	-3,005	-2,575
Metabolisme	CYP2D6 Substrat	Tidak	Tidak	Tidak
	CYP3A4 Substrat	Ya	Tidak	Ya
	CYP1A2 Inhibitor	Ya	Tidak	Tidak
	CYP2C19 Inhibitor	Ya	Tidak	Tidak
	CYP2C9 Inhibitor	Ya	Tidak	Ya
	CYP2D6 Inhibitor	Tidak	Tidak	Tidak
	CYP3A4 Inhibitor	Ya	Tidak	Ya
	Klirens Total (Log ml/min/kg)	0,73	0,81	0,213
Eksresi	Renal OCT2 Substrat	Tidak	Tidak	Tidak

Keterangan:

- Vdss : *Volume of Distribution at Steady State*
 BBB : *Blood Brain Barrier*
 CNS : *Central Nervous System*
 CYP2D6 : Sitokrom 2D6
 CYP3A4 : Sitokrom 3A4
 CYP1A2 : Sitokrom 1A2
 CYP2C19 : Sitokrom 2C19
 Renal OCT2 : *Renal Organic Cation Transporter 2*

Berdasarkan tabel 5.3, didapatkan bahwa dari seluruh senyawa dan pembanding dapat diabsorbsi di *gastrointestinal* karena terdapat 5 senyawa dan pembanding yang diabsorbsi pada usus dengan sangat baik karena memiliki nilai absorbsi >80% dan 5 senyawa cukup terabsorbsi pada usus yaitu pada rentang 30-80%. Menurut Chander *et al* (2017), absorbsi usus sangat baik jika >80% dan kurang baik apabila nilainya <30%. Dalam penghantaran obat sangat penting untuk mempertimbangkan permeabilitas pada kulit. Dari 10 senyawa dan pembanding memiliki permeabilitas yang tinggi karena memiliki nilai Log Kp <-2,5, kecuali senyawa Indoline yang memiliki permeabilitas rendah karena memiliki nilai log Kp

-1,704 yang berarti $>-2,5$. Hal ini sesuai dengan pernyataan Pires *et al* (2015), bahwa senyawa memiliki permeabilitas rendah jika bernilai Log K_p $>-2,5$.

Permeabilitas sel lapis tunggal Caco2 (*Caco2 cell monolayer permeability*) digunakan sebagai model *invitro* dari mukosa usus sehingga dapat memprediksi penyerapan obat yang diberikan secara peroral. Menurut Pires *et al* (2015), senyawa dianggap memiliki permeabilitas Caco-2 yang tinggi jika Papp $> 8 \times 10^6$ cm / s. Namun pada prediksi menggunakan *pkCSM tool* permeabilitas akan diterjemahkan kedalam nilai log Papp dengan dinyatakan tinggi bila memiliki nilai > 0.90 . Pada penelitian ini terdapat 4 senyawa yang diprediksi memiliki permeabilitas Caco-2 yang tinggi karena memiliki nilai > 0.90 . P-glikoprotein (P-gp) merupakan protein yang membentuk membran, berfungsi untuk memompa transmembran efluks (Mealey *et al*, 2010). P-gp akan menangkap obat lipofilik saat obat tersebut akan melakukan perjalanan melalui lipid bilayer dan membalik molekul dari dalam ke luar dan akhirnya sampai ke matriks ekstraselular (Chakraborty, 2016). Pada tabel 5.3 terdapat 4 senyawa dari 10 senyawa dan pembanding yang bukan P-gp substrat.

Setelah absorpsi terlewati, maka selanjutnya ialah tahap distribusi. Prediksi distribusi menggunakan *pkCSM tool* diprediksi VDSS, BBB, dan CNS. *Volume distribusi at steady state* (VDSS) adalah volume teoritis bahwa dosis total obat perlu didistribusikan secara merata untuk memberikan konsentrasi yang sama seperti pada plasma darah. Semakin tinggi nilai VDSS, semakin banyak kandungan obat yang didistribusikan ke di jaringan dari pada plasma. Menurut Pires *et al* (2015), senyawa dikatakan mempunyai Volume Distribusi rendah bila nilai Log VDSS $< -0,15$, dan tinggi bila $> 0,45$. Dari tabel 5.3 nilai Log VDSS yang didapat

adalah antara -0,675 hingga 0,408. Yang memiliki VDSS rendah adalah *azoxystrobin*, *genestein*, *kaempferol*, *isoleucyl-alanine*, dan *1-Acetyl-3-piperidinecarbohydrazide*. Sedangkan senyawa uji yang lain dapat didistribusikan secara merata untuk memberikan konsentrasi yang sama seperti pada plasma darah.

BBB (*Blood Brain Barrier*) merupakan kemampuan suatu obat untuk menembus sawar darah otak. Hal ini dapat membantu untuk mengurangi efek samping dan toksitas ataupun dapat meningkatkan khasiat obat yang memiliki tujuan pengobatan didalam otak. Menurut Pires *et al* (2015), senyawa dikatakan mampu menembus sawar otak dengan baik bila Log BBB > 0,3 dan tak terdistribusi dengan baik bila Log BBB < -1. Sehingga terdapat 1 senyawa dari 10 senyawa dan pembanding yang dapat menembus sawar otak dengan baik. Sedangkan pembanding memiliki nilai Log BBB -1,342 yang berarti bahwa obat tersebut tidak memiliki kemampuan yang baik dalam menembus sawar otak. Selanjutnya yaitu *Permeabilitas central nervous system* (CNS) yang merupakan kemampuan obat menembus sistem saraf pusat, juga berguna mengurangi efek samping dan toksitas, serta meningkatkan efek aktivitas farmakologisnya di sistem saraf pusat. Senyawa dikatakan mampu menembus sawar pusat bila Log PS > -2, dan tidak dapat menembus bila < -3. Dari seluruh senyawa dan pembanding terdapat 1 senyawa yang dapat menembus sawar pusat yaitu senyawa *Indoline*.

Proses metabolisme merupakan proses pengubahan obat menjadi metabolitnya secara kimia dalam tubuh oleh hati. CYP450 merupakan enzim detoksifikasi yang banyak ditemukan di dalam hati. Enzim CYP2D6 merupakan salah satu enzim yang berperan dalam metabolisme beberapa obat. Substrat

CYP3A4 adalah CYP450 3A4 (disingkat CYP3A4), yang berarti sitokrom P450, famili 3, subfamili A, polipeptida 4. Enzim yang penting setelah obat beredar. Sedangkan inhibitor CYP1A2 merupakan inhibitor dari CYP1A2. CYP2C19 bertanggung jawab untuk metabolisme berbagai obat, termasuk inhibitor pompa proton (PPI). Sehingga CYP2C19 inhibitor merupakan inhibitor dari enzime CYP2C19. Enzim CYP2C9 terlibat dalam metabolisme 10% obat, sedangkan enzim CYP2C19 terlibat dalam metabolisme 20% obat, CYP2C9 inhibitor merupakan inhibitor dari enzim CYP2C9. CYP2D6 inhibitor juga merupakan inhibitor dari enzim CYP2D6 dan inhibitor CYP3A4 merupakan inhibitor dari enzim CYP3A4 (Haris, 2019).

Berdasarkan tabel 5.3 didapatkan bahwa senyawa *Indoline* hanya dapat dimetabolisme oleh CYP1A2 Inhibitor. *Kaempferol* dapat dimetabolisme oleh CYP1A2 Inhibitor, CYP2C9 Inhibitor dan CYP3A4 Inhibitor. *Isorhamnetin* dapat dimetabolisme pada CYP1A2 Inhibitor dan CYP3A4 Inhibitor. *Genestein* dapat dimetabolisme pada CYP1A2 Inhibitor, CYP2C19 Inhibitor, CYP2C9 Inhibitor, CYP2D6 Inhibitor, dan CYP3A4 Inhibitor. *N-[{(5-Chloro-1,2,3-thiadiazol-4-yl)methyl]-1-(2-isopropyl-4-methyl-1,3-thiazol-5-yl)-Nmethylethanamine* dapat dimetabolisme pada CYP3A4 Substrat, CYP1A2 Inhibitor, dan CYP2D6 Inhibitor. *(2-Methyl-1,4-piperazinediyil)bis [(3,4,5-trimethoxyphenyl)methanone]* dapat dimetabolisme oleh CYP3A4 Substrat dan CYP3A4 Inhibitor. *Azoxystrobin* dapat dimetabolisme oleh CYP3A4 Substrat, CYP1A2 Inhibitor, CYP2C19 Inhibitor, CYP2C9 Inhibitor, dan CYP3A4 Inhibitor. Sedangkan senyawa pembanding dapat dimetabolisme oleh CYP3A4 Substrat, CYP2C9 Inhibitor, dan CYP3A4 Inhibitor.

Klirens total dan renal OCT2 digunakan untuk mengukur eksresi suatu obat. Klirens total adalah kombinasi dari metabolisme hati dan empedu, dan eksresi melalui ginjal yang keduanya berkaitan dengan bioavailabilitas dan menentukan tingkatan dosis dalam keadaan Steady State (Hardjono, 2016). Prediksi klirens total dari seluruh senyawa dan pembanding ialah 0,213 hingga 0,829 ml/min. Renal OCT2 merupakan transporter pada ginjal yang memiliki peran dalam disposisi dan klirens obat-obatan dan senyawa endogen. Dari seluruh senyawa dan pembanding bukan merupakan substrat OCT2.

5.2 Hasil *Docking* dan Analisis Asam Amino

Perlakuan selanjutnya adalah melakukan *docking moleculer* yang bertujuan mengetahui interaksi senyawa yang lulus skrining dengan protein reseptor. Interaksi ligan (senyawa) dengan reseptor dapat ditampilkan dengan metode komputasi dan dapat digunakan untuk mengetahui farmakofor dari suatu senyawa (Ekin, 2007). Reseptor yang digunakan adalah reseptor 3WZD yang berperan dalam angiogenesis untuk pertumbuhan tumor, invasi dan metastase tumor. Simulasi *docking* dilakukan dengan menggunakan program *molegro virtual docker (MVD)* versi 6.0. Namn harus dilakukan preparasi protein target terlebih dahulu sebelum melakukan simulasi *docking*.

5.2.1 Preparasi Sampel *In Silico*

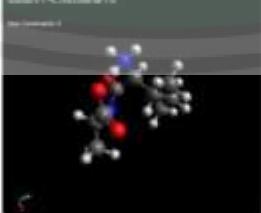
Guna memperoleh hasil analisis optimal maka dilakukanlah preparasi sampel *in silico* (Muchtaridi et al., 2018). Caranya yaitu dengan melakukan preparasi terhadap ligan maupun protein target yang akan digunakan dalam metode *in silico* (Sliwoski et al., 2014). Sampel yang dipreparasi dalam penelitian ini adalah

senyawa yang lulus skrining dengan parameter-parameter tertentu serta reseptor VEGF (3WZD) dengan organisme *human* dan ligan internal *lenvatinib*.

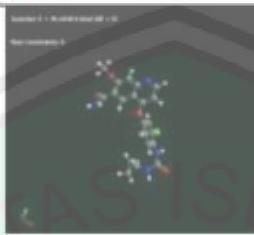
5.2.1.1 Pembuatan Struktur 3 Dimensi (3D) dan Penentuan Energi Minimal

Pembuatan struktur 3 dimensi dan penentuan energi minimalisasi dalam penelitian ini menggunakan program *Avogadro*. Pada tahap ini, dilakukan juga optimasi geometri yang bertujuan untuk memperbaiki struktur ligan dan posisi atom hidrogen. Minimalisasi energi ligan dilakukan dengan menggunakan medan gaya *merck molecular forcefield 94* (MMFF94) yang bertujuan untuk mencari satu konformasi senyawa terbaik atau yang paling stabil untuk dilakukan *docking* dengan reseptor target (Adelina, 2014). Hasil struktur 3 dimensi (3D) dan minimalisasi energi ditunjukkan pada tabel 5.4.

Tabel 5.4 Struktur 3D dan energi minimal senyawa lulus skrining dengan MMFF94 pada aplikasi *Avogadro*

Nama Senyawa	Struktur 3D	Energi Minimal (Kkal/mol)			Rerata (Kkal/mol) ± STD
		Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III	
<i>Indoline</i> (2,3-dihydro-1H-indole)		22,441	22,44	22,44	22,44 Kkal ± 0
<i>Isoleucyl-Alanine</i> ((2S)-2-[(2S,3S)-2-amino- 3- methylpentanoyl]amino]propanoic acid)		-9,833	-9,864	-9,881	-9,859 Kkal ± 0.02

<i>1-Acetyl-3-piperidinecarbohydrazide</i>		30,396	30,395	30,392	30,394 Kkal ± 0,002
<i>Kaempferol</i> (3,5,7-trihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chromen-4-one)		46,366	46,366	46,366	46,366 Kkal ± 0
<i>Isorhamnetin</i> (3,5,7-trihydroxy-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)chromen-4-one)		68,883	68,883	68,883	68,883 Kkal ± 0
<i>Genistein</i> (5,7-dihydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)chromen-4-one)		35,724	35,724	35,724	35,724 Kkal ± 0
<i>N-[{(5-Chloro-1,2,3-thiadiazol-4-yl)methyl]-1-(2-isopropyl-4-methyl-1,3-thiazol-5-yl)-Nmethylethanamine</i>		23,051	23,051	23,051	23,051 Kkal ± 0
<i>(2-Methyl-1,4-piperazinediyl)bis[(3,4,5-trimethoxyphenyl)methanone]</i>		146,71	146,52	146,52	146,58 Kkal ± 0,1
<i>Azoxystrobin</i> (methyl (E)-2-{2-[6-(2-cyanophenoxy)pyrimidin-4-yl]oxyphenyl}-3-methoxyprop-2-enoate)		47,771	47,771	50,245	48,596 Kkal ± 1

<i>(2R)-2-Amino-3-Trisulfanylpropanal</i>		26,136	26,136	26,136	26,136 Kkal ± 0
<i>Lenvatinib</i> <i>(4-[3-chloro-4-(cyclopropylcarbamoylamino)phenoxy]-7-methoxyquinoline-6-carboxamide)</i>		11,188	11,181	11,147	11,172 Kkal ± 0.02

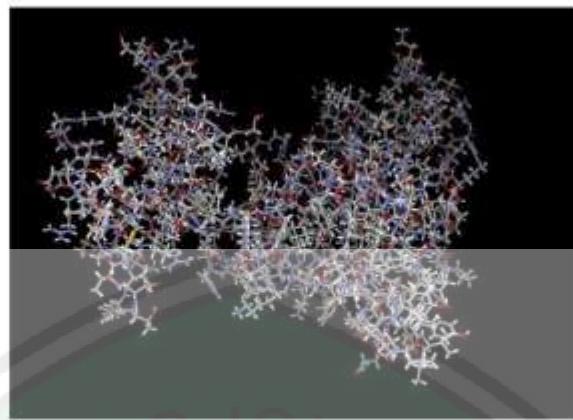
Keterangan :

SD : standar deviasi

Minimalisasi energi akan memberikan pengaturan posisi atom terbaik dalam ruang untuk senyawa sehingga gaya inter-atom dan energi sterik setiap atom mendekati nol dan posisi pada permukaan energi potensial adalah titik stasioner. Konfirmasi struktur akan mempengaruhi sifat fisikokimia yang nyata dari suatu senyawa. Selain itu, juga mempengaruhi nilai *docking* yang menunjukkan afinitas reseptor ligan (Yanuar, 2012).

5.2.1.2 Hasil Preparasi Protein 3WZD

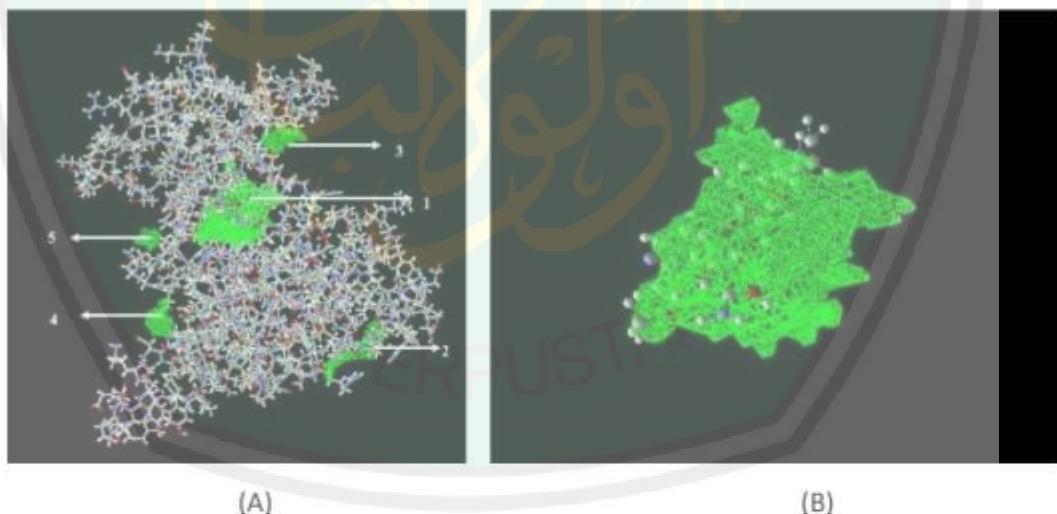
Preparasi protein diunduh dari data file PDB (*protein data bank*) melalui (www.rcsb.org). Protein yang diunduh adalah protein *vascular endothelial growth factor* dengan kode 3WZD dengan *native ligand* yaitu *lenvatinib*. Protein tersebut ditinjau menggunakan program *molegro virtual docker* (MVD) (Gambar 5.3).



Gambar 5.3 Reseptor 3WZD

5.2.2 Hasil Penentuan Lubang (*Cavity*) dan Validasi Reseptor VEGF (3WZD)

Hasil penentuan lubang (*cavity*) digunakan untuk mendeteksi tempat berinteraksi antara ligan dan reseptor pada reseptor 3WZD. *Cavity* yang terdapat pada reseptor ditunjukkan dengan warna hijau. Hasil penentuan *cavity* ditunjukkan pada gambar 5.4.



Gambar 5.4 (A) Hasil deteksi lubang (*cavity*) pada reseptor 3WZD
(B) *Cavity* dan *ligand native*

Keterangan :

*Cavity 1 Vol= 188,928 surface 540,16 (ligand native)
Cavity 2 Vol= 39,936 surface 139,52
Cavity 3 Vol=29,184 surface 125,44
Cavity 4 Vol=19,968 surface 81,92
Cavity 5 Vol=14,848 surface 62,72*

Lubang yang digunakan pada gambar 5.4 adalah lubang yang dimungkinkan memiliki interaksi pada reseptor 3WZD, dimana lubang tersebut adalah lubang pada volume dengan 188,928 luas permukaan 540,16 (*Cavity 1*). Lubang tersebut digunakan karena mempunyai *ligand native* yang berikatan dengan reseptor dan mempunyai nilai RMSD <2Å, sehingga mempunyai potensi sebagai lubang aktif reseptor.

Validasi dilakukan dengan mendocking ulang *native ligand* pada lubang reseptor dengan menggunakan aplikasi *molegro virtual docker versi 6.0.*. Hasil validasi ditunjukkan dengan nilai RMSD. Reseptor dinyatakan valid dan dapat dilakukan simulasi *docking* selanjutnya jika memiliki nilai RMSD \leq 2Å (Hevener *et al.*, 2009). Hasil validasi reseptor ditunjukkan pada tabel 5.5.

Tabel 5.5 Hasil validasi dan nilai RMSD

<i>Cavity dan Ligand Native</i>	<i>Parameter Score</i>	<i>Docking Score</i>			<i>Rerata (Kkal/mol) ± SD</i>
		<i>Replikasi 1 (Kkal/mol)</i>	<i>Replikasi 2 (Kkal/mol)</i>	<i>Replikasi 3 (Kkal/mol)</i>	
Cavity 1 dan ligand Lev A	RMSD	0,728639	0,530503	0,618263	0,62580167 ± 0,099283
	<i>Rerank Score</i>	-122,172	-128,414	-124,385	-124,990333 ± 3,164722
	<i>MolDock Score</i>	-146,762	-153,36	-152,357	-150,826333 ± 3,555363

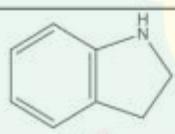
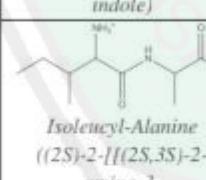
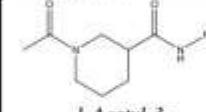
Berdasarkan tabel 5.5 reseptor 3WZD memiliki 1 *ligand native* yaitu Lev A yang akan digunakan untuk proses *docking* karena memiliki nilai ratarata RMSD paling rendah yaitu $0,62580167 \pm 0,099283$. Sehingga lubang (*cavity*) yang digunakan yaitu *cavity 1* dengan volume 188,928 dan luas permukaan 540,16. Lubang tersebut digunakan karena mempunyai *native ligand* yang berikatan dengan

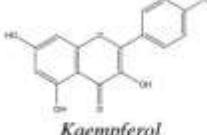
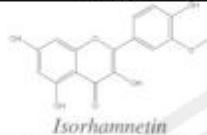
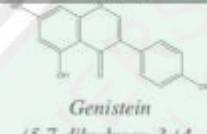
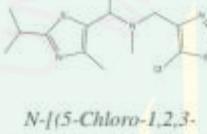
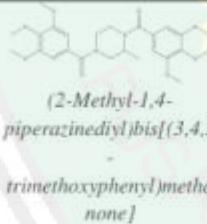
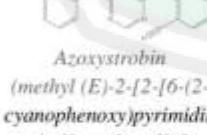
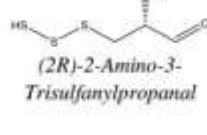
reseptor dan mempunyai nilai RMSD <2Å sehingga mempunyai potensi sebagai lubang aktif reseptor.

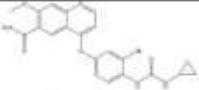
5.2.3 Hasil Perolehan Docking Score

Hasil simulasi *docking* dapat dilihat dari rerata nilai *scoring* yang didapatkan. Digunakan 3 paramater yaitu *MolDock score*, *rerank score*, dan ikatan hidrogennya. Nilai dari ketiga parameter tersebut merupakan skor yang dapat mengukur kekuatan ikatan obat-reseptor (CLCbio, 2013). Energi ikatan juga dapat digunakan sebagai prediksi aktivitas senyawa. Energi ikatan antara ligan dan reseptor dapat dilihat melalui *Rerank Score* (Nugroho, 2014). Hasil *docking score* yang diperoleh pada penelitian ini ditunjukkan pada tabel 5.6.

Tabel 5.6 Hasil *Docking score* senyawa yang lulus skrining dan Lenvatinib terhadap reseptor 3WZD

Reseptor	Senyawa	Parameter Score	Docking Score			Rerata (Kkal/mol) ± SD
			Replikasi 1 (Kkal/mol)	Replikasi 2 (Kkal/mol)	Replikasi 3 (Kkal/mol)	
3 WZD	 <p>Indoline (2,3-dihydro-1H-indole)</p>	H-Bond	-2,37989	-2,3379	-2,497	-2,40493 ± 0,082453
		Rerank Score	-48,3848	-48,3278	-48,3167	-48,3431 ± 0,036537
		MolDock Score	-67,1525	-67,1541	-57,1637	-63,8234333 ± 5,767498
	 <p>Isoleucyl-Alanine ((2S)-2-[[(2S,3S)-2-amino-3-methylpentanoyl]amino]propanoic acid)</p>	H-Bond	-0,266171	-3,29585	-0,38607	-1,31603033 ± 1,715622
		Rerank Score	-69,826	-73,1038	-70,3414	-71,0904 ± 1,762596
		MolDock Score	-82,0824	-84,9327	-82,0446	-83,0199 ± 1,656641
	 <p>1-Acetyl-3-piperidinecarbohydrazide</p>	H-Bond	-2,0387	-4,36807	-4,44641	-3,61772667 ± 1,368038
		Rerank Score	-64,4204	-64,742	-64,3901	-64,691 ± 0,195012
		MolDock Score	-75,5454	-75,6163	-75,573	-75,804 ± 0,035739
		H-Bond	-4,4473	-4,45869	-0,0551735	-2,9870545 ± 2,53909
		Rerank Score	-64,2938	-64,2387	-59,6758	-62,7361 ± 2,650441

		MolDock Score	-75,5316	-75,521	-70,0624	-73,705 ± 3,154589
	H-Bond	-6,9019	-12,0503	-6,83376	-8,59532 ± 2,992294	
	Rerank Score	-80,5119	-78,9479	-80,5129	-79,9909 ± 0,903265	
	MolDock Score	-107,163	-96,7077	-107,16	-103,6769 ± 6,035504	
	H-Bond	-10,7464	-10,8544	-10,7207	-10,7738333 ± 0,070946	
	Rerank Score	-72,4776	-73,1602	-72,5087	-72,7155 ± 0,385435	
	MolDock Score	-87,0827	-87,3375	-86,9785	-87,1329 ± 0,18469	
	H-Bond	-1,83381	0	-2,21421	-1,34934 ± 1,18394	
	Rerank Score	-81,2234	-76,0638	-74,5822	-77,2898 ± 3,486214	
	MolDock Score	-108,661	-101,276	-98,0865	-102,6745 ± 5,424192	
	H-Bond	-3,31135	-0,35573	-3,37253	-3,34653667 ± 1,724361	
	Rerank Score	-79,1946	-90,6798	-79,2376	-83,0373333 ± 6,618605	
	MolDock Score	-91,9091	-105,431	-92,0004	-96,4468333 ± 7,78065	
	H-Bond	-2,84014	-3,4643	-7,29065	-4,53169667 ± 2,409619	
	Rerank Score	-84,0765	-86,3524	-86,6642	-85,6977 ± 1,412629	
	MolDock Score	-104,315	-109,786	-114,083	-109,394667 ± 4,895744	
	H-Bond	-6,20044	-5,91799	-3,91202	-28,6768167 ± 1,247702	
	Rerank Score	-50,9069	-55,1897	-54,8235	-53,6400333 ± 2,374034	
	MolDock Score	-65,9451	-68,115	-68,0984	-67,3861667 ± 1,248028	
	H-Bond	-7,27295	-7,62722	-8,17857	-7,69291333 ± 0,45637	

	 <i>Lenvatinib (4-/3-chloro-4- (cyclopropylcarbamoyla mino)phenoxy]-7- methoxyquinoline-6- carboxamide)</i>	<i>Rerank Score</i>	-101,193	-119,768	-122,448	-114,469667 ± 11,57575
		<i>MolDock Score</i>	-127,815	-147,439	-149,013	-141,422333 ± 11,81055

Keterangan:



: *Moldock Score* (Kkal/mol) ialah turunan dari fungsi skoring PLP dengan ikatan hydrogen dan skema yang baru



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



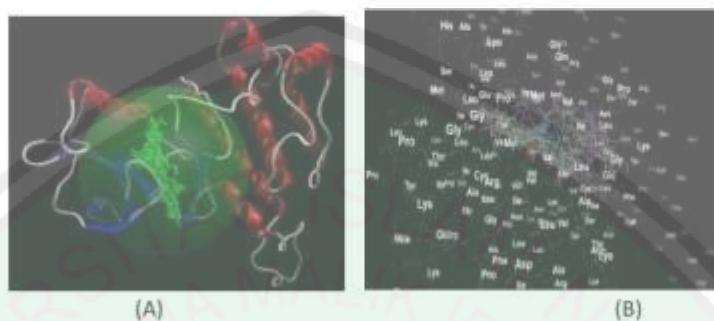
: *H-Bond* (Kkal/mol) ialah energi ikatan hidrogen

Berdasarkan hasil *rerank score* sepuluh senyawa yang terdapat pada tabel 5.6, senyawa yang memiliki nilai *rerank score* yang paling kecil dan mendekati nilai *rerank score* dari pembanding adalah *azoxystrobin (methyl (E)-2-[2-[6-(2-cyanophenoxy)pyrimidin-4-yl]oxyphenyl]-3-methoxyprop-2-enoate)*. Berdasarkan hal tersebut dapa senyawa tersebut mempunyai afinitas lebih tinggi dibandingkan senyawa yang lain. Menurut Hardjono (2016), *rerank score* merupakan energi ikatan yang ditunjukkan melalui adanya jumlah energi yang dibutuhkan untuk membentuk ikatan antara ligan dan reseptor. Semakin kecil nilai energi ikatan yang didapatkan maka ikatan tersebut semakin stabil, dan jika semakin stabil ikatan ligan dengan reseptor maka bisa dikatakan bahwa aktivitas senyawa tersebut semakin besar.

5.2.4 Hasil Interaksi Ligan dengan Asam Amino

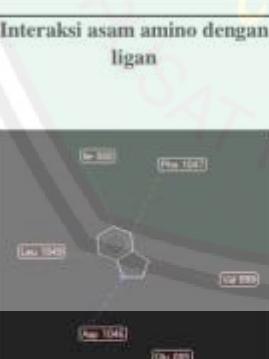
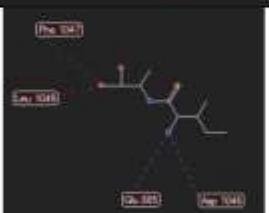
Terdapat interaksi ligan dengan beberapa asam amino yang aktif dari reseptor 3WZD. Salah satu sifat dari reseptor yaitu terdiri dari asam amino yang akan berinteraksi dengan ligan sehingga dapat menentukan interaksi yang terjadi pada ikatan ligan dengan asam amino (Yahalom *et al.*, 2011; Khazanov dan karlson,

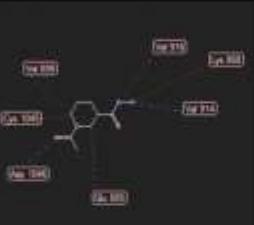
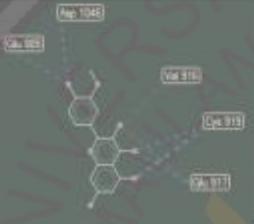
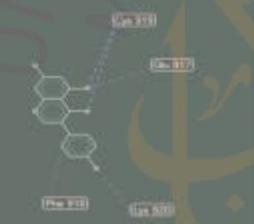
2013). Hasil *docking native ligand lenvatinib*, ligan uji senyawa yang lulus skrining dan obat pembanding ditunjukkan pada gambar 5.5 A, sedangkan ikatan dengan asam amino ditunjukkan pada gambar 5.5 B dan pada tabel 5.7.



Gambar 5.5 (A)Hasil *docking* senyawa (*2-Methyl-1,4-piperazinediylbis[(3,4,5-trimethoxyphenyl)methanone]* (hijau tosca), *Azoxystrobin* (ungu muda), *Kaempferol* (hijau muda), *Genestein* (kuning kecoklatan), *1Acetyl-3-piperidinecarbohydrazide* (merah), *(2R)-2-Amino-3-Trisulfanylpropanal* (hijau tua), *Isoleucine-Alanine dipeptide* (biru keunguan), *Indoline* (putih), *N-[{5-Chloro-1,2,3-thiadiazol-4-yl}methyl]-1-(2-isopropyl-4-methyl-1,3-thiazol-5-yl)-N-methylethanamine* (biru muda), *Isorhamnetin* (ungu tua), dan *Lenvatinib* (kuning) terhadap reseptor 3WZD.
(B)Hasil *docking* 10 senyawa yang lulus skrining, Lenvatinib dan *native ligand* terhadap reseptor 3WZD dengan residu asam amino ditunjukkan *stick style* dan ligan dengan *Wireframe style with colour by chain*

Tabel 5.7 Profil asam amino dan gugus fungsi yang terlibat dalam ikatan hidrogen dan interaksi sterik pada reseptor 3WZD

Senyawa	Interaksi asam amino dengan ligan	Ikatan Hidrogen (Garis Biru)			Ikatan Asam Amino	Ikatan Sterik (Garis Merah)			Ikatan Asam Amino
		Asam Amino	Jarak (Å)	Kekuatan		Asam Amino	Jarak (Å)	Kekuatan	
<i>Indoline</i> (2,3-dihydro-1H-indole)		Asp 1046	2,74	-2,38	N-H	Ile 888	2,91	2,38	-
						Leu 1049	3,02	1,70	-
						Phe 1047	3,11	1,17	-
						Val 899	3,02	1,68	-
						Glu 885	-	-	-
<i>Isoleucyl-Alanine ((2S)-2-[(2S,3S)-2-amino-3-methylpentanoyl]amino[propanoic acid])</i>		Glu 885	2,60	-2,50	N-H ₂	Phe 1047	2,70	3,66	O
		Asp 1046	2,82	-2,50		Leu 1049	3,20	0,63	O
									-
					O	Cys 1045	3,12	1,08	-

<i>1-Acetyl-3-piperidinocarbohydrazide</i>		Cys 919	2,60	-2,32	N	Leu 889	3,16	0,85	-
		Val 914	2,74	-2,50	-	Val 916	3,07	1,37	N-H
						Lys 868	3,19	0,67	N-H ₂
						Glu 885	3,16	0,87	-
<i>Kaempferol (3,5,7-trihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chromen-4-one)</i>		Glu 885	2,67	-1,95	N-H	Cys 1045	3,11	1,14	-
			3,10	-2,49	O				
		Asp 1046	2,83	-2,50	-				
<i>Isorhamnetin (3,5,7-trihydroxy-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)chromen-4-one)</i>		Glu 885	2,60	-2,50	O-H	Val 916	2,84	2,77	O-H
		Glu 917	3,38	-1,12	O-H				
		3,10	-2,50	O-H					
		Cys 919	2,90	-1,92	O-H				
		2,90	-1,99	O-H					
		Asp 1046	2,91	-2,50	O-H				
<i>Genistein (5,7-dihydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)chromen-4-one)</i>		Cys 919	2,91	-1,17	O-H	Phe 918	3,12	1,12	-
		2,76	-2,42	O-H					
		Glu 917	2,64	-2,50	O-H				
		Lys 920	3,10	-2,50	O-H				
<i>N-[5-Chloro-1,2,3-thiadiazol-4-yl]methyl]-1-(2-isopropyl-4-methyl-1,3-thiazol-5-yl)-Nmethyllethanamine</i>		Cys 1045	2,60	-2,32	N	Leu 889	3,00	1,82	N
			2,72	-2,50	N	Glu 885	3,05	1,52	N
						Asp 1046	2,80	3,02	S
							3,15	0,89	-
						Phe 1047	3,07	1,40	-
<i>(2-Methyl-1,4-piperazinediyl)bis[(3,4,5-trimethoxyphenyl)methanone]</i>		Cys 919	2,60	-2,49	N	Val 848	3,15	0,89	O
						Val 916	2,96	2,07	O
						Asp 1046	3,08	1,35	O
						Cys 919	3,15	0,92	-
						Lys 920	2,77	3,23	-
						Leu 840	3,07	1,38	O
<i>Azoxystrobin (methyl (E)-2-{2-[6-(2-cyanophenoxy)pyr</i>		Cys 919	3,19	-1,81	O-H	Cys 919	-	-	-
						Glu 885	-	-	-

<i>imidin-4-yl]oxyphenyl]-3-methoxyprop-2-enoate)</i>		Glu 885	2,60	-1,41	-	Asp 1046	2,83	2,87	-
(2 <i>R</i>)-2-Amino-3-Trisulfanylpropanal		Asp 1046	2,60	-1,57	-	Val 848	3,05	1,54	-
<i>Lenvatinib (4-[3-chloro-4-(cyclopropylcarbamoylamino)phenoxy]-7-methoxyquinoline-6-carboxamide)</i>		Phe 1047	2,60	-2,50	O-H	Asn 923	2,99	1,89	-
		Glu 885	3,10	-2,50	S-H	Gly 922	3,07	1,42	-
		Asp 1046	3,09	-2,50	-	Leu 1049	2,70	3,64	N-H ₂
		Phe 1047	3,10	-2,50	N-H ₂				
		Gly 841	3,19	-0,86	O-H	Gly 841	-	-	-
		Cys 919	2,62	-2,50	N	Cys 919	2,69	3,72	-
		Asp 1046	2,97	-1,70	N-H	Cys 1045	2,67	3,82	Cl
			310	-2,21	Cl	Ala 866	2,80	3,01	-
						Asp 1046	3,13	1,03	-
							3,10	1,20	-
							3,14	0,99	-

Keterangan:

- : Asam amino yang sama dengan *ligand native* reseptor VEGF (3WZD)
- : Senyawa yang memiliki asam amino yang sama dengan obat pembanding

Asam amino merupakan nutrisi dalam semua sel hidup dan penting untuk proliferasi serta pemeliharaan sel tumor. Sel-sel tumor memiliki permintaan asam amino yang lebih besar dari pada sel-sel normal karena mereka berkembang biak lebih cepat (Jin *et al.*, 2018). Pada *docking* ini diperoleh dua interaksi antara lain interaksi hidrogen dan interaksi sterik. Ikatan hidrogen sendiri merupakan salah satu ikatan nonkovalen yang banyak terdapat dalam sistem biologis, misalnya protein dan asam nukleat. Ikatan ini penting untuk dipertimbangkan karena pada umumnya interaksi molekuler yang terjadi di dalam tubuh berupa interaksi nonkovalen, yaitu interaksi antar atom yang tidak terikat secara kovalen satu sama lain. Dengan adanya ikatan hidrogen dapat mempengaruhi aktivitas sifat kimia

fisika seperti titik didih, titik lebur, kelarutan dalam air, dan kemampuan pembentukan khelat (Siswandono, 2000).

Ikatan hidrogen memiliki peran yang penting dalam menentukan besar kecilnya nilai *binding affinity* yang dihasilkan dari proses *docking* karena memiliki energi yang tinggi dari pada ikatan sterik dan ikatan elektrostatik (Fitriah, 2013). Ikatan hidrogen terjadi antara atom H yang melekat pada atom elektronegatif dengan atom elektronegatif dengan jarak ikatan 1,72 - 2,85 Å (Muchtaridi *et al.*, 2018). Berdasarkan hasil visualisasi, pada *native ligand lenvatinib* mengikat tiga residu, yaitu Gly 841, Cys 919, dan Asp 1046. Seluruh senyawa mengikat asam amino sama seperti *native ligand* pada interaksi hidrogen kecuali *N-[(5-Chloro-1,2,3-thiadiazol-4-yl)methyl]-1-(2-isopropyl-4-methyl-1,3-thiazol-5-yl)-Nmethyl-ethanamin*.

Ikatan sterik disebut juga sebagai ikatan *Van der Waals*. Asam amino pada ikatan sterik lebih dapat menstabilkan suatu ikatan, karena ikatan sterik (*Van der Waals*) ketika terdapat dua atom yang saling berdekatan akan membentuk gaya tarik yang lemah dan non spesifik. Interaksi ini kekuatanya akan berkurang drastis ketika jarak molekul meningkat. Ikatan sterik dapat memberikan tempat bagi interaksi hidrogen dengan asam amino yang aktif. Suatu ikatan sterik sangat mempengaruhi ikatan hidrogen yang terjadi (Muchtaridi *et al.*, 2018). Ikatan sterik yang terdapat pada *native ligand* yaitu Gly 841, Cys 919, Cys 1045, Ala 866 dan Asp 1046. Senyawa yang mengikat asam amino sama seperti *native ligand* pada interaksi sterik antara lain: *Azoxystrobin*, *N-[(5-Chloro-1,2,3-thiadiazol-4-yl)methyl]-1-(2-isopropyl-4-methyl-1,3-thiazol-5-yl)-Nmethylethanamine*, dan *(2-Methyl-*

1,4-piperazinediyil)bis[(3,4,5-trimethoxyphenyl)methanone]. Asam amino yang diikat oleh *native ligand* obat pembanding yang sama dengan senyawa tersebut ialah Asp 1046 dan Cys 919.

Menurut Temirak (2014), asam amino utama yang berpengaruh pada reseptor VEGFR-2 yaitu Glu 885 dan Asp 1046, selain itu ada pula Lys 868 dan Cys 919. Tanpa kedua asam amino tersebut maka efek inhibitor pada reseptor VEGFR-2 tidak akan terjadi. Gugus hidroksil (OH) dan jarak ikatan berperan menstabilkan senyawa yang berikatan dengan targetnya. Gugus hidroksil pada suatu senyawa adalah persyaratan agar dapat berikatan dengan reseptor dan memiliki aktivitas. Banyaknya jumlah ikatan hidrogen dan jarak interaksi menentukan kekuatan interaksi, hal ini terlihat dari sifat fisik dan kimia antara H₂O dan HF yang jauh berbeda walaupun sama-sama memiliki ikatan hidrogen. H₂O memiliki titik didih yang lebih tinggi dari HF. Hal ini menunjukkan bahwa butuh energi yang lebih tinggi untuk memutuskan ikatan molekul H₂O. Molekul H₂O memiliki jumlah ikatan hidrogen dua sedangkan HF satu. Selain itu jarak antara atom donor dan akseptor menentukan kekuatan interaksi (stabilitas) (Fitriah, 2017).

Berdasarkan hasil diatas didapatkan bahwa *Azoxystrobin* memiliki kesamaan asam amino yang paling banyak dengan pembanding. Adanya kesamaan asam amino pada ligan uji dan obat pembanding didapatkan bahwa asam amino tersebut merupakan sisi aktif pada reseptor 3WZD, sehingga dapat diprediksi senyawa tersebut memiliki aktivitas yang sama dengan obat pembanding. Jarak ikatan ligan dengan asam amino reseptor akan mempengaruhi afinitas ikatan antara ligan dengan reseptor (Mumpuni *et al.*, 2015). Semakin besar jarak ikatan tersebut,

maka ikatan akan semakin mudah terputus, sebaliknya jika jarak ikatan semakin kecil, maka ikatan tersebut akan semakin kuat dan semakin besar afinitas ikatannya (Rachmania, 2015).

5.3 Prediksi Toksisitas secara *In Silico*

Langkah selanjutnya adalah untuk memprediksi toksisitas senyawa yang lulus skrining. Prediksi toksisitas menggunakan parameter GHS, LD₅₀, uji mutagenik *ames toxicity*, *hepatotoxicity*, *skin sensitization* dan kelas toksisitas dengan aplikasi *protox online* dan *pkCSM online tool*, hasilnya ditunjukkan pada tabel 5.8.

Tabel 5.8 Prediksi toksisitas menggunakan *Protox online* dan *pkCSM online tool*

Senyawa	Toksisitas				
	LD50 (mg/Kg)*	Kelas toksisitas*	Uji Mutagenik AMES**	Toksik terhadap hepar**	Sensitivitas kulit**
<i>Indoline</i> (2,3-dihydro-1 H -indole)	1250	4	Tidak	Tidak	Iya
<i>Isoleucyl-Alanine</i> ((2S)-2-[(2S,3S)-2-amino-3-methylpentanoyl]amino]propanoic acid)	3750	5	Tidak	Tidak	Tidak
<i>1-Acetyl-3-piperidinecarbohydrazide</i>	650	4	Iya	Iya	Tidak
<i>Kaempferol</i> (3,5,7-trihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chromen-4-one)	3919	5	Tidak	Tidak	Tidak
<i>Isorhamnetin</i> (3,5,7-trihydroxy-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)chromen-4-one)	5000	5	Tidak	Tidak	Tidak
<i>Genistein</i> (5,7-dihydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)chromen-4-one)	2500	5	Tidak	Tidak	Tidak
<i>N-[5-Chloro-1,2,3-thiadiazol-4-yl]methyl]-1-(2-isopropyl-4-methyl-1,3-thiazol-5-yl)-Nmethylethanamine</i>	200	3	Tidak	Iya	Tidak

(2-Methyl-1,4-piperazinediyl)bis[3,4,5-trimethoxyphenyl]methanone]	1000	4	Tidak	Tidak	Tidak
Azoxystrobin (methyl (E)-2-[2-[6-(2-cyanophenoxy)pyrimidin-4-yl]oxyphenyl]-3-methoxyprop-2-enoate)	500	4	Tidak	Iya	Tidak
(2R)-2-Amino-3-Trisulfanylpropanal	156	3	Tidak	Tidak	Iya
Lenvatinib (4-[3-chloro-4-(cyclopropylcarbamoylamino)phenoxy]-7-methoxyquinoline-6-carboxamide)	3000	5	Tidak	Iya	Tidak

Keterangan :

* Menggunakan *protox online*

** Menggunakan *pkCSM Online Tool*

LD₅₀ merupakan jumlah senyawa yang diberikan dimana dapat menyebabkan kematian 50% kelompok hewan coba. Klasifikasi tingkatan toksik dalam GHS (*the globally harmonized system of classification and labelling of chemicals*) disebutkan bahwa di atas dosis 2.000 mg/kgBB termasuk dalam kategori toksitas yang rendah dan sudah tidak terdapat simbol atau tanda peringatan keamanan dalam pelabelan yang perlu dicantumkan. Untuk menentukan toksitas senyawa dapat dilakukan dengan uji *ames toxicity*, metode yang digunakan secara luas untuk menilai potensi mutagenik senyawa dengan menggunakan bakteri. Hasil uji positif menunjukkan bahwa senyawa tersebut bersifat mutagenik dan oleh karena itu dapat bertindak sebagai karsinogen (Kesuma *et al.*, 2018). Untuk mengetahui obat tersebut tidak merusak hati menggunakan uji *hepatotoxicity*. Sedangkan untuk mengetahui senyawa dapat mengiritasi kulit dapat menggunakan uji *skin sensitization*.

Berdasarkan tabel 5.8, senyawa yang tergolong kelas toksisitas 5 ($2000 < LD_{50} \leq 5000$) dimana menurut klasifikasi GHS tergolong obat yang toksisitasnya rendah, tidak toksik terhadap hepar, tidak menimbulkan toksisitas pada bakteri, dan tidak mengakibatkan sensitivitas terhadap kulit yaitu *Isoleucine-Alanine dipeptide*, *Kaempferol*, *Isoharmnetin*, dan *Genestein*.

Sedangkan nilai LD_{50} dari obat pembanding (lenvatinib) pada penelitian ini sebesar 3000 mg/kg hal ini dapat dikategorikan kelas 5 pada toksisitas. Sedangkan uji Ames Toxicity pada lenvatinib menunjukkan senyawa tersebut tidak bersifat mutagenik, tidak mengakibatkan sensitivitas terhadap kulit, namun mengakibatkan toksik terhadap hepar.

Senyawa yang tergolong kelas toksisitas 4 ($300 < LD_{50} \leq 2000$) yaitu *Indoline*, *1-Acetyl-3piperidinecarbohydrazide*, *Azoxystrobin* dan *(2-Methyl-1,4-piperazinediyl)bis[(3,4,5-trimethoxyphenyl)methanone]*. Senyawa *(2-Methyl-1,4-piperazinediyl)bis[(3,4,5-trimethoxyphenyl)methanone]* tidak toksik terhadap hepar, tidak mutagenik, dan tidak mengakibatkan sensitivitas terhadap kulit. Senyawa *Indoline* mengakibatkan sensitivitas terhadap kulit. Senyawa *1Acetyl-3-piperidinecarbo-hydrazide* tidak menimbulkan sensitivitas pada kulit tapi bersifat mutagenik dan toksik pada hepar. Senyawa *azoxystrobin* menimbulkan toksisitas pada hepar namun tidak menimbulkan sensitivitas pada kulit dan tidak mutagenik.

Senyawa yang tergolong kelas 3 dimana resiko toksisitasnya lebih tinggi dari pada kelas 4 dan 5 yaitu *N-[(5-Chloro-1,2,3-thiadiazol-4-yl)methyl]-1-(2-isopropyl4-methyl-1,3-thiazol-5-yl)-N-methylethanamine* dan *(2R)-2-Amino-3-Trisulfanylpropanal*. Senyawa *N-[(5-Chloro-1,2,3-thiadiazol-4-yl)methyl]-1-(2-*

isopropyl-4methyl-1,3-thiazol-5-yl)-N-methylethanamine tidak menimbulkan sensitivitas pada kulit dan tidak mutagenik, namun toksik pada hepar. Senyawa *(2R)-2-Amino-3Trisulfanylpropanal* mengakibatkan sensitivitas terhadap kulit namun tidak mutagenik dan tidak toksik pada hepar.

5.4 Analisis Data Statistik

Hasil rerank score dianalisis secara statistik dengan menggunakan aplikasi SPSS 22 *for windows*. Berikut merupakan analisis data yang digunakan untuk mengetahui perbedaan aktivitas secara signifikan antara senyawa uji dengan pembanding.

5.4.1 Uji Normalitas

Uji normalitas digunakan untuk menguji suatu model regresi, suatu variabel independen dan variabel dependen ataupun keduanya mempunyai distribusi normal atau tidak normal. Apabila tidak berdistribusi secara normal, maka hasil uji statistik akan mengalami penurunan. Pengujian normalitas yang sering digunakan untuk melakukan analisis data adalah *Shapiro-Wilk* dan *Kolmogorov Smirnov*. Pada pengujian kali ini dipilih *Shapiro-Wilk* karena hasil pengamatan dalam uji kurang dari 50 sampel. Ketentuan suatu data dapat dinyatakan normal apabila suatu data memiliki signifikansi normalitas diatas 0,05 dan hasil analisis uji normalitas pada penelitian ini dapat dilihat pada tabel 5.9

Tabel 5.9 Hasil nilai Rerank Score Uji Normalitas *Shapiro-Wilk*

Senyawa Uji	Signifikansi
<i>Indoline (2,3-dihydro-1 H-indole)</i>	0,291
<i>Isoleucyl-Alanine((2S)-2-[(2S,3S)-2-amino-3-methylpentanoyl]amino]propanoic acid)</i>	0,280
<i>1-Acetyl-3-piperidinecarbohydrazide</i>	0,149

<i>Kaempferol (3,5,7-trihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chromen-4-one)</i>	0,020
<i>Isorhamnetin (3,5,7-trihydroxy-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)chromen-4-one)</i>	0,001
<i>Genistein (5,7-dihydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)chromen-4-one)</i>	0,077
<i>N-[(5-Chloro-1,2,3-thiadiazol-4-yl)methyl]-1-(2-isopropyl-4methyl-1,3-thiazol-5-yl)-N-methylethanamine</i>	0,409
<i>(2-Methyl-1,4-piperazinediyl)bis[(3,4,5-trimethoxyphenyl)methanone]</i>	0,006
<i>Azoxystrobin (methyl (E)-2-[2-{6-(2-cyanophenoxy)pyrimidin-4-yl}oxyphenyl]-3-methoxyprop-2-enoate)</i>	0,211
<i>(2R)-2-Amino-3-Trisulfanylpropanal</i>	0,147
<i>Lenvatinib (4-[3-chloro-4-(cyclopropylcarbamoylamino)phenoxy]-7-methoxyquinoline-6-carboxamide)</i>	0,222

Hasil tabel 5.9 menunjukkan bahwa data tidak berdistribusi normal karena terdapat senyawa yang memiliki nilai signifikansi dibawah 0,05. Analisis lebih lanjut dilakukan untuk mengetahui homogenitas data yang telah diperoleh.

5.4.2 Uji Homogenitas

Uji homogenitas data digunakan untuk mengetahui kesamaan variasi data sampel dari sampel uji penelitian. Pengujian yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan *Levene statistic test* dimana ketentuannya jika nilai sig >0,05 maka dapat diasumsikan memiliki varians yang sama, dan begitupun sebaliknya jika sig <0,05 maka data diasumsikan memiliki varians yang tidak sama. Hasilnya dapat diamati pada tabel 5.10 berikut:

Tabel 5.10 Hasil Uji Homogenitas *Levene statistic test*

<i>Levene statistic test</i>	Signifikansi
9,068	0,000

Hasil dari pengujian tersebut menunjukkan bahwa signifikansi data memiliki nilai kurang dari 0,05 dan dapat disimpulkan bahwa data tidak homogen sehingga dilakukan pengujian uji lanjutan non parametrik.

5.4.3. Uji Beda Non-parametrik

Uji non-parametrik yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Kruskal Wallis*. Tujuannya untuk membandingkan tiga atau lebih kelompok data sampel dengan ketentuan apabila nilai signifikansi data kurang dari 0,05 maka H_0 ditolak. H_0 yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel berasal dari populasi yang sama. Hasil dari uji beda menggunakan *Kruskal Wallis* dapat diamati pada tabel 5.11

Tabel 5.11 Hasil Uji Beda *Kruskal-Wallis test*

	<i>Rerank Score</i>
Chi-Square	30,923
Df	10
Asymp. Sig.	,001

Hasil pengujian menunjukkan bahwa nilai probabilitas (Sig.) = 0,001, sehingga $0,000 < 0,05$, maka H_0 ditolak. Sehingga dapat dinyatakan bahwa ada perbedaan aktivitas antara ligan ujidengan lenvatinib. Oleh karena itu, dilakukan uji lanjut non-parametrik *Mann-Whitney*. Analisis *Mann-Whitney* digunakan untuk menguji rata-rata dari dua sampel yang berukuran tidak sama. Hasil lengkapnya dapat dilihat pada lampiran 1 dengan ringkasan pada tabel 5.12.

Tabel 5.12 Hasil Uji Mann-Whitney

Rerank Score	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	Rata-Rata Rerank Score	Ket
S1	-											-48,3431 ± 0,036537	b
S2	0,05	-										-53,6400333 ± 2,374034	b
S3	0,05	0,05	-									-62,7361 ± 2,650441	b
S4	0,05	0,05	0,05	-								-64,691 ± 0,195012	b
S5	0,05	0,05	0,05	0,05	-							-71,0904 ± 1,762596	b
S6	0,05	0,05	0,05	0,05	0,275	-						-72,7155 ± 0,385435	ba
S7	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	-					-77,2898 ± 3,486214	b
S8	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,513	-				-79,9909 ± 0,903265	ba
S9	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,275	0,827	-			-83,0373333 ± 6,618605	ba
S10	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,513	-		-85,6977 ± 1,412629	ba
S11	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	-	-114,469667 ± 11,57575	b

Keterangan:

S1: Indoline

S2: (2R)-2-Amino-3-Trisulfanylpropanal

S3: Kaempferol

S4: 1-Acetyl-3-piperidinecarbohydrazide

S5: Isoleucyl-Alanine

S6: Genestein

S7: N-[{5-Chloro-1,2,3-thiadiazol-4-yl}methyl]-1-(2-isopropyl-4-methyl-1,3-thiazol-5-yl)-Nmethyleneanamine

S8: Isorhamnetin

S9: (2-Methyl-1,4-piperazinediyl)bis[(3,4,5-trimethoxyphenyl)methanone]

S10: Azoxystrobin

S11: Lenvatinib

a: sama

b: berbeda nyata

Tabel 5.12 merupakan hasil perhitungan statistik menggunakan MannWhitney. Hasil keputusan berdasarkan nilai probabilitas *Asymp. Sig. (2-tailed)*, menyatakan bahwa jika nilai probabilitas *Asymp. Sig. (2-tailed)* > 0,05, maka H_0 diterima, sedangkan jika nilai probabilitas *Asymp. Sig. (2-tailed)* < 0,05, maka H_0 ditolak. Berdasarkan Tabel 5.12 diperlihatkan bahwa nilai probabilitas

Asymp. Sig. (2-tailed) = 0,05, hal ini menandakan bahwa terdapat perbedaan aktivitas antara senyawa uji dan lenvatinib. Namun, ada 5 nilai probabilitas Asymp. Sig. (2-tailed) >0,05 yaitu senyawa *Isoleucyl-Alanine* dengan *Genistein*, *N-[5-Chloro-1,2,3-thiadiazol-4-yl)methyl]-1-(2-isopropyl-4-methyl-1,3-thiazol-5-yl)-Nmethylethanamine* dengan *Isorhamnetin*, *N-[5-Chloro-1,2,3-thiadiazol-4-yl)methyl]-1-(2-isopropyl-4-methyl-1,3-thiazol-5-yl)-Nmethylethanamine* dengan *(2-Methyl-1,4-piperazinediyl)bis[(3,4,5-trimethoxyphenyl)methanone]*, *Isorhamnetin* dengan *(2-Methyl-1,4-piperazinediyl)bis[(3,4,5-trimethoxyphenyl)methanone]*, dan *(2-Methyl-1,4-piperazinediyl)bis[(3,4,5-trimethoxyphenyl)methanone]* dengan *Azoxystrobin*. Hal ini dapat dinyatakan bahwa pasangan senyawa tersebut memiliki aktivitas yang sama.

5.5 Integrasi Penelitian dengan Kajian Al-qur'an

Bila dilihat dari proses penciptaannya, manusia merupakan makhluk yang paling tinggi derajatnya. Meskipun manusia diciptakan dari tanah oleh Allah SWT, karena manusia dibekali dengan berbagai kelebihan yang tidak dimiliki oleh makhluk ciptaan Allah SWT yang lainnya. Sehingga setiap manusia memiliki keistimewaan tersendiri. Keberhasilan dan pencapaian manusia terletak pada keseriusan, konsisten, dan kesinambungan dalam mencari ilmu. Dalam ajaran Islam mencari ilmu sangatlah dianjurkan bagi siapapun, tidak memandang laki-laki atau perempuan, tidak juga memandang usia. Sehingga orang yang memiliki ilmu atau orang berilmu, hatinya akan memancarkan sinar terang dan tidak mungkin melakukan hal-hal yang dilarang dalam agama. Allah berfirman dalam Al-qur'an surat Al-Ankabut ayat 43 berikut ini:

وَتَلِكَ الْأَمْثَالُ نَضْرِبُهَا لِلنَّاسِ ۖ وَمَا يَفْعَلُهَا إِلَّا الْغَالِبُونَ

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

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

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

Metode *in silico* merupakan suatu cara pengembangan obat baru yang digunakan sebagai studi awal dan akan dilanjutkan dengan metode lain pada skala laboratorium (Rohmah, 2017). Metode ini mempunyai peranan penting dalam bidang kimia medisinal, yaitu dalam proses merancang, menemukan, mengoptimasi senyawa bioaktif saat pengembangan obat baru. *In silico* adalah cara

identifikasi obat baru yang cepat, tidak membutuhkan biaya yang mahal, dan mengurangi penggunaan hewan coba. Uji ini dilakukan dengan cara *molecular docking* yang dapat memprediksi adanya aktivitas dari suatu senyawa dengan sel target (reseptor) (Hardjono, 2016).

Pada uji *in silico* ini peneliti menggunakan tumbuhan *Chrysanthemum cinerariifolium* dengan kandungan kimia senyawa flavonoid dan terpenoid (Ukiya et al, 2002). Sehingga perlu dilakukan uji *in silico* menggunakan tumbuhan *Chrysanthemum cinerariifolium* untuk mengetahui aktivitas antikanker payudara pada reseptor VEGF (3WZD). Karena berdasarkan al-quran surat Asy-syu'ara ayat 7 yang berbunyi:

أَوْلَمْ يَرَوَا إِلَى الْأَرْضِ كُمْ أَبْتَثْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كُرْبَيْحٍ (٧)

Artinya:

“Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik?”.

Pada ayat tersebut menjelaskan bahwa tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang dapat berkhasiat sebagai obat dan mendatangkan kebaikan. Sehingga peneliti meneliti aktivitas antikanker dalam tanaman *Chrysanthemum cinerariifolium* untuk pengobatan di masa yang akan datang. Peneliti memprediksi bahwa tanaman *Chrysanthemum cinerariifolium* memiliki aktivitas antikanker payudara dan memiliki beberapa senyawa yang toksisitasnya rendah sehingga dapat dilakukan uji lanjutan agar dapat dimanfaatkan sebagai alternatif dan kombinasi obat kanker payudara di masa mendatang.

BAB VI

PENUTUP

6.1 Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilaksanakan, dihasilkan sebagai berikut:

1. Terdapat 10 senyawa diantara 35 senyawa hasil *metabolit profiling* oleh Ayu (2018) dalam ekstrak etanol 96% daun *Chrysanthemum cinerariifolium* yang memenuhi hukum lima lipinski dalam skrining menggunakan aplikasi *SwissADME*.
2. Terdapat 10 senyawa diantara 35 senyawa hasil *metabolit profiling* oleh Ayu (2018) dalam ekstrak etanol 96% daun *Chrysanthemum cinerariifolium* yang memiliki aktivitas terhadap reseptor *vascular endothelial growth factor* (3WZD). Senyawa yang memiliki nilai rerank score paling rendah yaitu *azoxystrobin* (-85,6977 Kkal/mol), sedangkan Lenvatinib memiliki nilai *rerank score* (-114,469667 Kkal/mol). Pada interaksi ligan dan asam amino *azoxystrobin* memiliki asam amino yang sama dengan lenvatinib, yaitu Cys 919 dan Asp 1046 pada ikatan hidrogen dan sterik.
3. Kelas toksisitas dari 10 senyawa diantara 35 senyawa hasil *metabolit profiling* oleh Ayu (2018) dalam ekstrak etanol 96% daun *Chrysanthemum cinerariifolium* yaitu kelas 3 (toksik jika tertelan yaitu $50 < LD_{50} \leq 300$ mg / kg), kelas 4 (berbahaya jika tertelan yaitu $300 < LD_{50} \leq 2000$ mg / kg) dan kelas 5 (kemungkinan berbahaya jika tertelan yaitu $2000 < LD_{50} \leq 5000$ mg / kg, dimana kelas 5 merupakan kelas toksisitas dalam kategori rendah menurut GHS).

6.2 Saran

Bagi peneliti selanjutnya yaitu analisis dinamika molekular untuk mengetahui ikatan asam amino yang lebih lengkap, dilakukan perubahan struktur dan modifikasi turunan senyawa, dan juga dilakukan uji sitotoksik terhadap senyawa.

DAFTAR PUSTAKA

- Adelina, R., 2014. Uji *Molecular Docking Annomuricin E* dan *Muricapentocin* pada Aktivitas Antiproliferasi. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Volume 12, Nomor 1.
- Agulnik, M, Siu, L.L. 2005. State of the art management of Nasopharyngeal Carcinoma: Current and Future Directions. *Brit J Cancer*. Volume 92:799-806.
- Alviana, N., Sidharta, B. R. dan Martini, T. 2016. *Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Krisan (Chrysanthemum morifolium Syn. Dendrathema grandiflora) Terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*. Yogyakarta: Universitas Atma Jaya.
- Al- Mahal *et al.*, 2007. *Tafsir Jalalain Ter Bahrun Abu Bakar*. Bandung: Sinar Baru Algensindo.
- Al-Qurthubi dan Imam S. 2009. *Tafsir Al-Qurthubi*. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Andiani, Y. 2013. *Budidaya Bunga Krisan Potensi Besar Sebagai Komoditas Ekspor*. Yogyakarta: Pustaka Baru Press.
- Ayu, N., L. 2018. *Metabolite Profiling Bagian Akar, Batang, Daun, dan Bunga dari Ekstrak Etanol 96% Chrysanthemum cinerariifolium dengan Metode UPLC-QTOF-MS/MS [Skripsi]*. Malang: Fakultas Kedokteran dan Ilmu-Ilmu Kesehatan UIN Malang.
- Aziz, Farid. 2010. *Buku Acuan Nasional Onkologi dan Ginekologi* Edisi ke-1. Jakarta: PT Bina Pustaka Sarwono Prawirohardjo.
- Banerjee, P., Dunkel, M., Wettig, M. R., & Preissner, R. 2018. ProTox: a web server for the *in silico* prediction of rodent oral toxicity. *Nucleic Acids Research*, 42 (W1), W53–W58.
- Baxevanis, A.D. dan Ouellette, B.F.F. 2001. *Bioinformatics A Practical Guide to the Analysis of Genes and Proteins Second Edition*. New York: John Wiley & Sons.
- Bishayee A, Ahmed S, Brankov N, and Perloff M. 2011. Triterpenoids as Potential agents for the Chemoprevention and Therapy of Breast Cancer. *NIH Public Acces*, Volume 12: 980-996.

- Boutaghane, N., Voutquenne-Nazabadioko, L., Simon, A. 2013. A New Triterpenic Diester from the Aerial Parts of *Chrysanthemum macrocarpum*. *Phytochemistry Letters*, 1-7.
- Bruce. A., Chabner., Thomas. G., Roberts. Jr. 2005. Chemotherapy and The War On Cancer. *Nature Review*. Volume 5.
- Bujo H. 2005. Role of body weight reduction in obesity assocides comorbidities, epidemiology of obesity in Japan.Japan Med Ass J. Volume 48, Number 1:47-50.
- Catalano C, Abbate L, Sergio F B, Motisi A, Carrubba. 2014. Micropropagation and Invitro Culture Pyrethrum (*Chrysanthemum cinerariifolium* (Trev) Vis). *Natural Products: Research Reviews*. Volume 2.
- Chakraborty, P and Ramakrishnan, M., 2016. Role of P-glycoprotein in Chemotherapeutic Drug Resistance and Mechanisms of Pump Deactivation to Overcome MDR in Cancer Cells. *A Critical Review*. Volume 1, Number 2, pp.31-38.
- Chander, S., et al., 2017. Synthesis and Study of Anti HIV-1 RT activity of 5-benzoyl-4-methyl-1,3,4,5-tetrahydro-2H-1,5-benzodiazepin-2-one derivatives. *Bioorganic Chemistry*. 72: 74-9.
- CLCbio. 2013. *Moelgro Virtual Docker User Manual, MVD 2013.6.0 for Windows, Linux, and Mac OS X*. Molegro A CLC bio company.
- Daina, A., Michelin, O., dan Zoete, V. 2016. SwissADME: A Free Web Tool to Evaluate Pharmacokinetics, Druglikeness and Medicinal Chemistry Friendliness of Small Molecules. *Scientific Reports*. Volume 7.
- Denardo, D., dkk. 2007. *Inflammation and breast cancer*. BioMed Central Ltd.
- Depkes RI. 2015. *Infodatin pusat data dan informasi kementerian kesehatan RI: Situasi penyakit kanker di Indonesia*. Jakarta: Depkes RI.
- Djalil, A.D., Kartasasmita, R.E., Surantaatmaja, S.I., Tjahjono, D.H. 2012. Toxicity Prediction of Photosensitizer Bearing Carboxyclic Acid Group by ECOSAR and TOXTREE. *Journal of Pharmacology an Toxicology*. Volume 7, Number 5: 219-230.
- Donatus, I.A. 2005. *Toksikologi Dasar, Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi, Fakultas Farmasi*. Yogyakarta: UGM.

- Ekin, 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.
- Ellyzar, Henny S., Krisna M., dan Theodorus., 2017. Hubungan antara overekspresi *Vascular Endothelial Growth Factor* dengan Er, Pr, Her-2, Ki67 pada subtipe molekular karsinoma payudara invasif tidak spesifik. *JJK.* Volume 4, Nomor 1.
- El-Din, H. M. A. et al. 2016. Molecular docking based screening of compounds against VP40 from Ebola virus. *Bioinformation.* Volume 12, Number 3: 192-196.
- Ferrara N. dkk. 2004. Discovery and Development of Bevacizumab, an Anti VEGF Antibody for Treating Cancer. *Nature Reviews/Drug Discovery.* Volume 3: 391-8.
- Finch, A., Lecureur, V., and Guillouzo, A. 2011. The Glycoprotein Multidrug Transporter. *General Pharmacology.* Volume 37, Number 4.
- Fitriah, A. 2013. Analisis Interaksi Senyawa Flavonoid Sukun (*Artocarpus altilis*) terhadap Reseptor Estrogen Alfa (ER α) secara *In Silico* sebagai Model Kandidat Antikanker Payudara [Skripsi]. Malang: Program Studi Biologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Fitryesta, Reza R. 2016. Pengaruh Penyuluhan Pemeriksaan Payudara Sendiri (Sadari) dengan Penggunaan Media Video Terhadap Pengetahuan dan Sikap Deteksi Dini Kanker Payudara pada Siswi SMA Negeri 1 Sumbawa [Skripsi]. Surabaya: Program Studi Pendidikan Bidan Universitas Airlangga.
- Globocan. 2018. *Cancer today.* France: International Agency for Research on Cancer.
- Guo, S., Colbert, L.S., McGlothen, T.Z., and Gonzalez-Perez, R.R. 2012. Regulation of Angiogenesis in Human Cancer via *Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2* Tumor Angiogenesis, Sophia Ran, *IntechOpen*, DOI: 10.5772/27370.
- Hardjono S. 2013. Sintesis dan Uji Aktivitas Antikanker Senyawa 1-(2-Klorobenzoiloksi)urea da 1-(4-klorobenzoiloksi)urea. *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi.* Volume 2, Nomor 1: 1.
- Hardjono, S. 2016. Prediksi Sifat Farmakokinetik, Toksisitas dan Aktivitas Sitotoksik Turunan N-Benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea sebagai Calon Obat Antikanker melalui Pemodelan Molekul. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia.* Volume 14, Nomor 2.

- Hariz, M.F. 2019. Uji Sitotoksik, Toksisitas da Prediksi Sifat Fisikokimia Senyawa Isoliquiritigenin dan Oxyresveratrol terhadap Reseptor *B-cell lymphoma 2* (4AQ3) dan *Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2* (2RL5) sebagai Terapi Kanker Serviks secara *In Silico* [Skripsi]. Malang: Pogram Studi Farmasi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Hicklin DJ, Ellis LM. 2005. Role of the Vascular Endothelial Growth Factor Pathway in Tumor Growth and Angiogenesis. *Journal of Clinical Oncology*, Volume 23, Number 5; 1-12.
- Hinchliffe, A. 2008. *Molecular Modeling for Beginners*. 2nd ed., Chichester : John Wiley and Sons Ltd.
- Hoi, et al. 2015. Recent Advances In Structure-Based Drug Design And Virtual Screening Of Vegfr Tyrosine Kinase Inhibitors. *Methods*,71, Pp. 85-91.
- Hurlock, E. B. 2002. *Psikologi Perkembangan: Suatu Pendekatan Sepanjang Rentang Kehidupan*. Jakarta: Erlangga.
- Ihwani, Asabri, M.Y., Khumaidi, A. 2018. Uji Toksisitas Akut Dan Letal Dose (LD50) Ekstrak Etanol Daun Pepolo (*Bischofia javanica* Blume) Pada Mencit Putih (*Mus musculus*). *Journal of Science and Technology*. Volume 7, Nomor 1: 110-116.
- Ikawati Z. 2006, *Pengantar Farmakologi Molekuler*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Jin, et al. 2018. Significant Improvements in the Characterization of Volatile Compound Profiles in Squid Using Simultaneous distilationextraction and GCxGC-TOEFS. *Journal of Pharmacy*. Volume 13.
- Jeong, H. And Chiou, W.L. 2006. Role of P-glycoprotein in the hepatic metabolism of tacrolimus. *Xenobiotica*. Volume 36, Number 1.
- Johan, A. K. 2016. Uji *In Silico* Senyawa Genistein sebagai Ligan pada Reseptor Estrogen Beta [Skripsi]. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma.
- Josko J, dkk. 2000. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its effect on angiogenesis. *Med Sci Monit*, Volume 6, Number 5: 1047-52.
- Katzung, B.G., Masters, S.B. danTrevor, A.J. 2015. *Farmakologi Dasar & Klinik*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Keman, K. 2014. *Patomekanisme Preeklamasia Terkini: Mengungkap Teori-Teori Terbaru tentang Patomekanisme Preeklamasia Dilengkapi dengan Deskripsi Biomolekular*. Malang: UB Press.

Kementerian Kesehatan RI. 2015. *Buletin Kanker*. Jakarta: Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI.

Kesuma, D., Siswandono, Purwanto, B.T., Hardjono, S. 2018. Uji *in silico* Aktivitas Sitotoksik dan Toksisitas Senyawa Turunan N-(Benzoil)-N'- feniltiourea Sebagai Calon Obat Antikanker. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, Volume 1.

Kitagawa, S. 2006. Inhibitory Effect of Polyphenols on P-GlycoproteinMediated Transport. *Biol. Pharm. Bull.* 29(1): 1-6.

Klauber-DeMore, N., Zee, K.J.V., Linkov, I., Borgen, P.I., and Gerald, W.L. 2001. Biological behavior of human breast cancer micrometastases. *Clin. Cancer Res.*, Volume 7: 2434-2439.

Kumar, V., Cotran R.S., Robbins S.L. 2007. *Sistem Genetelia Perempuan dan Payudara*. Dalam: Hartanto ,H. Darmaniah, Wulandari.(eds). *Buku Ajar Patologi*. Edisi 7. Jakarta: EGC.

Lajnah Pentashih al Qur'an. 2009 *Tafsir al-Qur'an tematik: kesehatan dalam perspektif Al-Quran*. Jakarta: Lajnah pentashihan Al-Qur'an.

Lander, E.S., Linton, L.M., Birren, B., Nusbaum, C., Zody, M.C., Baldwin, J. 2001. Initial Sequencing And Analysis Of The Human Genome. *Nature* J. 409(6822):860–921.

Lee, *et al.* 2014. Hormone therapy for postmenopausal women And unanswered issue. Elsevier : *Gynecology and Minimally Invasive Therapy*. Volume 2.

Liauw, S.L., Connell, P.P., Weichselbaum, R.R. 2013. New Paradigms and Future Challenges in Radiation Oncology: An Update of Biological Targets and Technology. *Science Translational Medicine*. Volume 5, Number 173.

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

Listiyana A, Annisa R, Suryadinata A. 2018. Efek Antikanker dan Induksi Apoptosis bunga krisan (*Chrysanthemum indicum*) Herbal Tea terhadap Sel Kanker Payudara. *Laporan Penelitian Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat*.

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

- Matheny, *et al.* 2001. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Implications of P-glycoprotein modulation. *Pharmacotherapy*. Volume 21, Number 7.
- Mealey, *et al.* 2010. Oral Bioavailability of P-glycoprotein Substrate Drugs Do Not Differ Between ABCB1-1 and ABCB1 wiLD type dogs. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* Volume 33.
- Mirossay, L., Lenka V., and Jan M. 2017. Antiangiogenic Effect of Flavonoids and Chalcones: An Update. *International Journal of Molecular Sciences*. Volume 19.
- Missailidis, Sotiris. 2008. *Anticancer Therapeutics*. UK: John Wiley & Sons,Ltd.
- Muchtaridi., Yannuar, A., Megantara, S., Purnomo, H. 2018. *Dasar-dasar dalam perancangan obat edisi pertama*. Jakarta. Prenadamedia Group.
- Mumpuni, *et al.* 2015. Penapisan Virtual dan Elusidasi Moda Ikatan Analog Kurkumin pada Enzim Siklooksigenase-2 Menggunakan Protokol Ee_Cox2_V.1.0. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Volume 13, Nomor 2.
- Mutaqin, J. Z. 2017. Lansia dalam Al-qur'an Kajian Term (Tafsir Asy Syaikh, Al Kibar, Al Ajuz, Ardzaq Al Umur) [Skripsi]. Semarang: UIN Walisongo.
- Neal, M. J. 2005. *Medical Pharmacology at a Glance*, Edisi Kelima. Jakarta: Erlangga.
- Nugroho, T. 2014. Studi *In Silico* Gendarusin A, B, C, D, dan E untuk Prediksi Aktivitas terhadap Enzim CYP17A1 sebagai Afrodisiaka [Skripsi]. Surabaya: Program Studi Farmasi UNAIR.
- Ozeki, *et al.* 2019. Influence of CYP3A5 and ABC Transporter Polymorphisms on Lenvatinib Plasma Trough Concentrations in Japanese Patients with Thyroid Cancer. *Scientific Reports*.
- Patrick, G. 2001. *Instant Notes in Medicinal Chemistry*. Oxford: BIOS Scientific Publisher.
- Pires, D.E.V., Blundell, T.L., Ascher, D.B. 2015. pkCSM: Predicting Small-Molecule Phramacokinetic and Toxicity Properties Using Graph- Based Signatures. *Journal of Medical Chemistry*. Volume 58: 4066-4072.
- Prakash, N.K.U., *et al.* 2014. Studie On Phytochemistry, Antioxidant, Antibacterial, Larvicidal, and Pesticidal Activities Of Aromatic Plants From Yelagiri Hills. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. Volume 6, Number 5:1-4.

- Pubchem. 2019. *Lenvatinib*. US: National Library of Medicine.
- Qardawi, M.Y. 2008. *Al-Ghaul Fi Al-Islam*. Doha: AFP publisher.
- Rachmania, R.A., Supandi dan Larasati, O.A. 2015. Analisis *In Silico* Senyawa Diterpenoid Lakton Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees) pada Reseptor *Alpha-Glucosidase* sebagai Antidiabetes Tipe II. *Pharmacy*. Volume 12, Nomor 02.
- Rohmah, K. 2017. Studi *In Silico* Kompleks Ligand-Reseptor Eugenol Daun Basil (*Ocimum Basilicum L.*) Dengan Reseptor Her2 Pada *Non-Small Cell Lung Cancer* (*Nsclc*) Dengan Kontrol Gefitinib. *Medicamento*. Volume 3, Nomor 2.
- Rosen L.S. 2002. Clinical Experience With Angiogenesis Signaling Inhibitors: Focus on Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Blockers. *Cancer Control*, Volume 9, Number 2: 36-44.
- Ruswanto, S., Richa, M., Tita, N., dan Tresna, L. 2017. Molecular Docking of *1-Benzoyl-3-methylthiourea* as Anti Cancer Candidate and Its Absorption, Distribution, and Toxicity Prediction. *Journal of Pharmaceutical Science and Research*. Volume 9, Number 5: 680-684.
- Saracci, Rodolfo, Christoper P. Wild. 2015. *International Agency for Research on Cancer The First 50 Years*. Switzerland: WHO Press.
- Schlick, T. 2010. *Molecular Modeling and Simulation, A Interdisciplinary Guide*. 2nd ed. New York: Springer Science Business Media.
- Shihab, M. Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah (Pesan, Kesan dan Keserasian Al-qur'an)* Vol 1. Jakarta: Lentera Hati.
- Shihab, M. Q. 2012. *Tafsir Al-Lubab (Makna, Tujuan dan Pelajaran dari Surah-Surah Al-Qur'an)*. Jakarta: Lentera Hati.
- Siswandono. 2016. *Kimia Medisinal 1: Edisi kedua*. Surabaya: Airlangga Press.
- Sjamsuhidajat, R & Wim, de Jong (ed). 2005. *Buku Ajar Ilmu Bedah*. Jakarta: EGC.
- Sledge Jr., G.W. and Miller, K.D. 2003. Review exploiting the hallmarks of cancer: the future conquest of breast cancer, *Eur. J. Cancer*. Volume 39: 1668–1675.
- Sliwoski, G., Kothiwale, S., Meiler, J., Lowe, E. W. Jr. 2014. Computational Methods in Drug Discovery. *Pharmacol Rev*. Volume 66: 334–395.

- Suharna, S. 2012. Studi *In Silico* Senyawa Turunan Flavonoid Terhadap Penghambatan Enzim *Tirosinase* [Skripsi]. Makassar: Program Sarjana UIN Alauddin.
- Sun, Q.L., Hua, S., Ye, J.H., Zheng, X.Q., dan Liang, Y.R. 2010. Flavonoids and Volatiles in *Chrysanthemum morifolium* Ramat Flower from Tongxiang County in China. *African Journal of Biotechnology*. Volume 9, Number 25: 3817-3821.
- Suryaningsih, E. K., dan Sukaca, B. E. 2009. *Kanker Payudara*. Yogyakarta : Paradigma Indonesia.
- Tandon, *et al.* 2006. P-glycoprotein: Pharmacological Relevance. *Relevance*. Volume 38, Number 1.
- Temirak, A. 2014. Part I Synthesis, Biological Evaluation and Docking Studies of New 2-Furylbenzimidazoles as Antiangiogenic Agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*. Volume 87.
- Thomson, R dan Christensen, M.H. 2006. MolDock: A New Technique for High-Accuracy Molecular Docking. *J Med Chem*. Volume 49, Number 11: 3315-3321.
- Turang, A.C., Taulu, L.A., Matindas, L.A., dan Taslan, E. 2007. *Teknik Budidaya Tanaman Krisan*. Sulawesi Utara: Departemen Pertanian BPTP.
- Ukiya M, *et al*. 2002. Constituents of Compositae Plants III Anti-tumor Promoting Effects and Cytotoxic Activity against Human Cancer Cell Lines of Triterpenoid Diols and Triols from Edible Chrysanthemum Flowers. *Cancer Letters*, Volume 177: 7-12.
- Underwood, 2010. *Analisis Kimia Kuantitatif Edisi Keenam*. Terjemahan oleh A.H. Pudjaatmaka. Jakarta: Erlangga.
- Wadood, A. *et al.* 2013. In Silico Drug Design: An Approach Which Revolutionised the Drug Discovery Process. *OA Drug Design and Delivery*. Volume 1, Nomor 1.
- Wijayakusuma. 2000. *Tumbuhan Berkhasiat Obat Indonesia*, Jilid I. Jakarta: Penerbit Pustaka Kartini.
- Yanuar, A. 2012. Virtual Screening of Indonesian Herbal Database as HIV-1 Reverse Transcriptase Inhibitor. *Biomedical Informatics*. Volume 8.
- Zdanowicz, John S. 2003. Detecting Abnormal Pricing in International Trade: The Greece-USA Case. *Interfaces*. Volume 33, Number 2: Hal. 54-64.

Zhou, J., 2010. Multi-Drug Resistance in Cancer. *Business*, 596.



LAMPIRAN

Lampiran 1 Uji normalitas *Shapiro-Wilk*

	Senyawa Uji	Tests of Normality			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Rerank Score	Indoline (2,3-dihydro-1 H – indole)	,329	3	,	,868	3	,291
	Isoleucyl-Alanine((2S)-2-[(2S,3S)-2-amino-3-methylpentanoyl]amino]propanoic acid)	,331	3	,	,865	3	,280
	1-Acetyl-3-piperidinecarbohydrazide	,357	3	,	,814	3	,149
	Kaempferol (3,5,7-trihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chromen-4-one)	,381	3	,	,759	3	,020
	Isorhamnetin (3,5,7-trihydroxy-2-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)chromen-4-one)	,385	3	,	,750	3	,001
	Genistein(5,7-dihydroxy-3-(4-hydroxyphenyl)chromen-4-one)	,371	3	,	,784	3	,077
	N-[(5-Chloro-1,2,3-thiadiazol-4-yl)methyl]-1-(2-isopropyl-4-methyl-1,3-thiazol-5-yl)-Nmethylethanamine	,304	3	,	,907	3	,409
	(2-Methyl-1,4-piperazinediyI)bis[(3,4,5-trimethoxyphenyl)methanone]	,384	3	,	,753	3	,006
	Azoxystrobin (methyl (E)-2-[2-[6-(2-cyanophenoxy)pyrimidin-4-yl]oxyphenyl]-3-methoxyprop-2-enoate)	,345	3	,	,839	3	,211
	(2R)-2-Amino-3-Trisulfanylpropanal	,358	3	,	,814	3	,147
	Lenvatinib (4-[3-chloro-4-(cyclopropylcarbamoylamino)phenoxy]-7-methoxyquinoline-6-carboxamide)	,343	3	,	,843	3	,222

Lampiran 2 Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Rerank Score

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
9,068	10	22	,000

Lampiran 3 Uji Kruskal Wallis

Ranks

	Senyawa uji	N	Mean Rank
Rerank score	senyawa 1	3	32,00
	senyawa 2	3	29,00
	senyawa 3	3	26,00
	senyawa 4	3	23,00
	senyawa 5	3	19,33
	senyawa 6	3	17,67
	senyawa 7	3	12,33
	senyawa 8	3	10,67
	senyawa 9	3	9,00
	senyawa 10	3	6,00
	senyawa 11	3	2,00
Total		33	

Test Statistics^{a,b}

	Rerank score
Chi-Square	30,923
df	10
Asymp. Sig.	,001

Lampiran 4 Uji Mann Whitney

1) Senyawa 1 dan 2

Test Statistics^a

	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

2) Senyawa 1 dan 3

Test Statistics^a

	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

3) Senyawa 1 dan 4

Test Statistics^a

	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

4) Senyawa 1 dan 5

Test Statistics^a

	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

5) Senyawa 1 dan 6

Test Statistics^a

	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

6) Senyawa 1 dan 7

Test Statistics^a

	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

7) Senyawa 1 dan 8

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

8) Senyawa 1 dan 9

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

9) Senyawa 1 dan 10

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

10) Senyawa 1 dan 11

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

11) Senyawa 2 dan 3

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

12) Senyawa 2 dan 4

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

13) Senyawa 2 dan 5

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

14) Senyawa 2 dan 6

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

15) Senyawa 2 dan 7

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

16) Senyawa 2 dan 8

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

17) Senyawa 2 dan 9

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

18) Senyawa 2 dan 10

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

19) Senyawa 2 dan 11

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

20) Senyawa 3 dan 4

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

21) Senyawa 3 dan 5

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

22) Senyawa 3 dan 6

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

23) Senyawa 3 dan 7

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

24) Senyawa 3 dan 8

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

25) Senyawa 3 dan 9

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

26) Senyawa 3 dan 10

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

27) Senyawa 3 dan 11

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

28) Senyawa 4 dan 5

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

29) Senyawa 4 dan 6

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

30) Senyawa 4 dan 7

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

31) Senyawa 4 dan 8

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

32) Senyawa 4 dan 9

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

33) Senyawa 4 dan 10

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

34) Senyawa 4 dan 11

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

35) Senyawa 5 dan 6

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	2,000
Wilcoxon W	8,000
Z	-1,091
Asymp. Sig. (2-tailed)	,275
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,400 ^b

36) Senyawa 5 dan 7

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

37) Senyawa 5 dan 8

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

38) Senyawa 5 dan 9

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

39) Senyawa 5 dan 10

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

40) Senyawa 5 dan 11

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

41) Senyawa 6 dan 7

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

42) Senyawa 6 dan 8

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

43) Senyawa 6 dan 9

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

44) Senyawa 6 dan 10

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

45) Senyawa 6 dan 11

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

46) Senyawa 7 dan 8

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	3,000
Wilcoxon W	9,000
Z	-,655
Asymp. Sig. (2-tailed)	,513
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,700 ^b

47) Senyawa 7 dan 9

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	8,000
Z	-1,091
Asymp. Sig. (2-tailed)	,275
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,400 ^b

48) Senyawa 7 dan 10

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

49) Senyawa 7 dan 11

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

50) Senyawa 8 dan 9

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	4,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-,218
Asymp. Sig. (2-tailed)	,827
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1,000 ^b

51) Senyawa 8 dan 10

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

52) Senyawa 8 dan 11

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

53) Senyawa 9 dan 10

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	3,000
Wilcoxon W	9,000
Z	-,655
Asymp. Sig. (2-tailed)	,513
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,700 ^b

54) Senyawa 9 dan 11

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b

55) Senyawa 10 dan 11

Test Statistics ^a	
	Rerank score
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	6,000
Z	-1,964
Asymp. Sig. (2-tailed)	,050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,100 ^b