

**PREDIKSI SENYAWA FITOESTROGEN YANG BERPOTENSI ANTIOSTEOPOROSIS
PADA EKSTRAK ETANOL 96% DAUN *Chrysophyllum cainito* L. TERHADAP
ESTROGEN RECEPTOR α (1A52) DAN β (3OLS) SECARA *IN SILICO***

SKRIPSI

**Oleh :
LUQMAN ALFANI NAJIB
NIM. 17930024**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**PREDIKSI SENYAWA FITOESTROGEN YANG BERPOTENSI ANTIOSTEOPOROSIS
PADA EKSTRAK ETANOL 96% DAUN *Chrysophyllum cainito* L. TERHADAP
ESTROGEN RECEPTOR α (1A52) DAN β (3OLS) SECARA *IN SILICO***

SKRIPSI

**Oleh :
LUQMAN ALFANI NAJIB
NIM. 17930024**

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

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2021**

**PREDIKSI SENYAWA FITOESTROGEN YANG BERPOTENSI ANTIOSTEOPOROSIS
PADA EKSTRAK ETANOL 96% DAUN *Chrysophyllum cainito* L. TERHADAP
ESTROGEN RECEPTOR α (1A52) DAN β (3OLS) SECARA *IN SILICO***

SKRIPSI

**Oleh :
LUQMAN ALFANI NAJIB
NIM. 17930024**

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal: 16 Juli 2021**

Pembimbing I



Dr. apt. Burhan Ma'arif Z.A, M.Farm
NIP. 19900221 201801 1 001

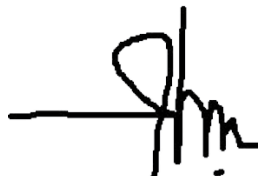
Pembimbing II



Ria Ramadhani Dwi Atmaja, S.Kep.,NS.,M.Kep
NIP. 19850617 200912 2 005

Mengetahui,

Ketua Program Studi Farmasi



apt. Abdul Hakim, M.P.I., M. Farm
NIP. 19761214 200912 1002

**PREDIKSI SENYAWA FITOESTROGEN YANG BERPOTENSI ANTIOSTEOPOROSIS
PADA EKSTRAK ETANOL 96% DAUN *Chrysophyllum cainito* L. TERHADAP
ESTROGEN RECEPTOR α (1A52) DAN β (3OLS) SECARA *IN SILICO***

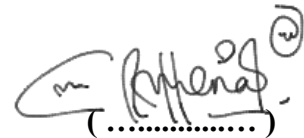
SKRIPSI

Oleh :
LUQMAN ALFANI NAJIB
NIM. 17930024

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

Tanggal: 16 Juli 2021

Ketua Penguji : Meilina Ratna D., S.Kep., NS., M.Kep
NIP. 19820523 200912 2 001



Anggota Penguji : 1. Dr. apt. Burhan Ma'arif Z.A., M.Farm
NIP. 19900221 201801 1 001



2. Ria Ramadhani D.A., S.Kep., NS., M.Kep
NIP. 19850617 200912 2 005



3. Ach. Nasichuddin, M.A.

NIP. 19730705 200003 1 002

Mengesahkan,

Ketua Program Studi Farmasi



apt. Abdul Hakim, M.P.I., M. Farm
NIP. 19751214 200912 1002

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Luqman Alfani Najib

NIM : 17930024

Program studi : Farmasi

Fakultas : Kedokteran dan Ilmu Kesehatan


Judul Penelitian :Prediksi Senyawa Fitoestrogen yang Berpotensi Antiosteoporosis pada Ekstrak etanol 96% Daun *Chrysophyllum cainito* L. terhadap *Estrogen Receptor α* (1A52) dan *β* (3OLS) Secara *In Silico*

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-banar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan penelitian pada skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi yang sesuai atas perbuatan tersebut.

Malang, 16 Juli 2021

Yang membuat pernyataan,



Luqman Alfani Najib
NIM. 17930024

MOTTO

**JADILAH ORANG YANG BERMANFAAT DIMANAPUN ANDA
BERADA**

خير الناس أنفعهم للناس

(Sebaik-baik manusia adalah yang bermanfaat bagi manusia lainnya)

العلم حرب للمتعالى كالسيل حرب للمكان العالى

(Ilmu adalah MUSUH bagi orang yang merasa tinggi (SOMBONG)
Sebagaimana aliran air merupakan musuh bagi tempat yang tinggi)

مَنْ سَلَكَ طَرِيقًا يَلْتَمِسُ فِيهِ عِلْمًا سَهَّلَ اللَّهُ لَهُ طَرِيقًا إِلَى الْجَنَّةِ

Barang siapa yang menempuh suatu jalan untuk menuntut ilmu, Allah akan
memudahkan baginya jalan ke surga (HR Muslim)

إِلَّا تَنَالُ الْعِلْمَ إِلَّا بِسِتَّةٍ * سَأُنْبِيكَ عَنْ مَجْمُوعِهَا بِبَيَانٍ

Ingatlah, engkau tidak akan sukses meraih ilmu, kecuali dengan enam (hal) #
saya akan menjelaskan seluruhnya secara gamblang.

دُكَّاءٍ وَحِرْصٍ وَاصْطِبَارٍ وَبُلْغَةٍ * وَإِرْشَادٍ أُسْتَاذٍ وَطُولِ زَمَانٍ

(1) Cerdas (berakal); (2) Antusias (hobi belajar); (3) Sabar (gigih dan tabah);
(4) Biaya (sarana-prasarana) # (5) Bimbingan guru; (6) Waktu lama.

HALAMAN PERSEMBAHAN

Allhamdulillahirobbil'alamin

Puji syukur kepada Tuhan pencipta alam semesta, Tuhan pencipta langit menjulang tinggi tak bertiang dan bumi bulat tak berujung yaitu Allah SWT, dengan segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini. Shalawat dan salam tetap tucurahkan kepada sang suri tauladan, sang pendobrak pintu kebathilan yaitu Nabi Muhammad SAW.

Kepada kedua orang tua tercinta, Bapak Muhammad Hilmi Mansur dan Ibu Luluk Muslikhatul A. yang selalu memberikan doa, semangat dan motivasi yang tak ada ujungnya. Semoga Allah senantiasa memberikan rahmat, keberkahan, dan ketinggian derajat di dunia khususnya akhirat.

Kepada keluarga besar Alfaqir yang telah memberikan dukungan. Semoga keberkahan selalu menyelimuti keluarga kami.

Kepada keluarga Phytoestrogen Project. Bapak Dr. apt. Burhan Ma'arif ZA., M.Farm. yang telah banyak memberikan bimbingan, motivasi hingga pembelajaran hidup. Semoga Allah membalas beliau dengan sebaik-baik balasan. Tidak lupa team dari berbagai angkatan, kakak-kakak yang selalu hadir berbagi keilmuan terutama Mbak Dila, Mbak Kiba, Mas Malik, Mas Denis, Mas Nanda, Mas Ricky dan Mas Aam., teman-teman yang membersamai setiap perjuangan, Iffa, Fariza, Dilla, Hilwa, Faisal, Nisfa, Suryanto, dan Hamdan., serta adik-adik yang memberi dukungan. Semoga Allah selalu memberkahi dan memudahkan langkah kalian dalam menggapai cita-cita.

Sahabat dan teman seperjuangan, Kontrakan Pecinta Rambut Panjang, Faisal, Sur, Jauhar, Lintang dan Tholut, yang bersedia menemani dan memotivasi alfaqir. Tidak lupa Farmakan 2017 terutama Farmasi A yang selalu memberikan kerjasama yang sangat baik selama perkuliahan yang tak bisa saya sebutkan satu persatu semoga Allah memberikan keberkahan dan kemudahan di setiap langkah kalian.

Diri Alfaqir sendiri yang mau dan mampu bertahan, berjuang berusaha sekuat yang Alfaqir bisa, tidak menyerah walau banyak rasa dan godaan yang datang untuk berhenti, terima kasih karena sudah mau untuk tetap kuat.

Terima Kasih untuk semuanya, Alfaqir tidak bisa membalas kebaikan kalian semuanya. Alfaqir hanya dapat mengucapkan rasa syukur kepada Allah SWT. Semoga Allah senantiasa memberikan ilmu yang bermanfaat dan keberkahan hidup untuk kita semua. Amiin.

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Puji syukur kepada Tuhan pencipta alam semesta, Tuhan pencipta langit menjulang tinggi tak bertiang yaitu Allah SWT, dengan segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini. Shalawat dan salam tetap tercurahkan kepada sang suri tauladan yaitu Nabi Muhammad SAW. Penulisan skripsi ini bertujuan sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi. Skripsi ini berjudul **“Prediksi Senyawa Fitoestrogen yang Berpotensi Antiosteoporosis pada Ekstrak Etanol 96% Daun *Chrysophyllum cainito* L. terhadap Estrogen Receptor α (1A52) dan β (3OLS) Secara *In Silico*”**

Penyusunan skripsi ini ditulis dengan bersungguh-sungguh dan mendapatkan bantuan dari berbagai pihak. Penulis menyampaikan banyak terimakasih kepada semua pihak yang berkontribusi dalam penyusunan skripsi ini. Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada :

1. Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag., selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Prof. Dr. dr. Yuyun Yueniwati P.W, M.Kes, Sp.Rad.(K), selaku Dekan Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. apt. Abdul Hakim, S.Si., M.PI., M.Farm., selaku Ketua Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dr. apt. Burhan Ma'arif ZA., M.Farm., selaku dosen pembimbing pertama yang telah memberikan bimbingan dan motivasi kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Ria Ramadhani Dwi Atmaja, S.Kep., NS., M.Kep., selaku dosen pembimbing kedua yang telah memberikan bimbingan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.

6. Meilina Ratna Dianti, S.Kep., NS., M.Kep., selaku penguji utama yang telah memberikan kritik dan saran kepada penulis sehingga penulis dapat memperbaiki skripsi ini.
7. Segenap sivitas akademika Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang terutama dosen serta staf Program Studi Farmasi yang telah memberikan banyak kontribusi dan ilmu pengetahuan yang sangat bermanfaat dalam penyusunan skripsi ini.
8. Keluargaku Bapak M. Hilmi Mansur dan Ibu Luluk Muslikhatul A., Zahrotul Aning Nur F. selaku orang tua dan adik dari penulis yang selalu memberikan do'a dan dukungan kepada penulis.
9. Serta semua pihak yang berpartisipasi dan membantu dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis tidak dapat membalas semuanya satu-persatu selain melantunkan do'a semoga Allah SWT memberikan balasan dengan sebaik-baik balasan. Semoga skripsi yang masih memerlukan penyempurnaan ini dapat memberikan manfaat serta menambah ilmu pengetahuan pembaca. Aamiin..

Wassalamu'alaikum Wr. Wb

Malang, Juni 2021

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN	v
MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR SINGKATAN	xvi
ABSTRAK	xvii
ABSTRACT	xviii
مستخلص البحث	xix
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	7
1.3. Tujuan Penelitian.....	7
1.4. Manfaat Penelitian.....	8
1.4.1. Manfaat Teoritis.....	8
1.4.2. Manfaat Praktis	8
1.5. Batasan Penelitian	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1. Tinjauan <i>C. cainito</i>	9
2.1.1. Klasifikasi <i>C. cainito</i>	9
2.1.2. Morfologi <i>C. cainito</i>	9
2.1.3. Kandungan <i>C. cainito</i>	11
2.1.4. Manfaat <i>C. cainito</i>	11
2.2. Tinjauan Osteoporosis	12
2.2.1. Patofisiologi Osteoporosis	13
2.3. Tinjauan Fitoestrogen	15
2.4. Tinjauan Estrogen	16
2.5. Tinjauan <i>Estrogen Receptor α</i> dan <i>Estrogen Receptor β</i>	18
2.6. Tinjauan Metode <i>In silico</i>	20
2.7. Tinjauan Hukum 5 Lipinski	22
2.8. Tinjauan <i>Software</i> Penunjang <i>In Silico</i>	23
2.8.1. PrRx 0.8 Metode Autodock Vina.....	23
2.8.2. Avogadro.....	24
2.8.3. <i>Website SwissADME</i>	25
2.8.4. <i>Discovery Studio Visualizer</i> 2016.....	26
2.9. Hasil <i>Metabolite Profiling</i> Ekstrak Etanol 96% daun <i>C. cainito</i>	27

BAB III KERANGKA KONSEPTUAL	28
3.1. Kerangka Konseptual.....	28
3.2. Uraian Kerangka Konseptual.....	29
3.3. Hipotesis	30
BAB IV METODE PENELITIAN	32
4.1. Jenis dan Rancangan Penelitian	32
4.2. Waktu dan Tempat Penelitian.....	32
4.3. Sampel Penelitian.....	32
4.4. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional.....	33
4.4.1. Variabel Penelitian.....	33
4.4.2. Definisi Operasional	33
4.5. Alat dan Bahan.....	35
4.5.1. Alat Penelitian.....	35
4.5.2. Bahan Penelitian	35
4.6. Skema Alur Penelitian	36
4.7. Prosedur Penelitian	37
4.8. Analisis Data.....	38
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	39
5.1. Preparasi Sampel.....	39
5.2. <i>Molecular Docking</i>	43
5.3. Analisis Fisikokimia	53
5.4. Potensi Antiosteoporosis dari Daun <i>C. cainito</i>	56
5.5. Manfaat Tanaman dalam Perspektif Islam.....	57
BAB VI PENUTUP	60
6.1. Kesimpulan	60
6.2. Saran	60
DAFTAR PUSTAKA	61
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1	Nilai RMSD dari proses validasi internal AutoDock Vina.....	41
Tabel 5.2	Kode SMILES senyawa	42
Tabel 5.3	Hasil <i>Molecular Docking</i> terhadap protein 1A52.....	44
Tabel 5.4	Hasil <i>Molecular Docking</i> terhadap protein 3OLS.....	45
Tabel 5.5	Hasil analisis fisikokimia senyawa agonis.....	55

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Tanaman <i>C. cainito</i>	9
Gambar 2.2. Perbedaan Tulang Normal dan Tulang Osteoporosis.....	14
Gambar 2.3. Tampilan <i>Software</i> PyRx 0.8 dengan Metode Autodock Vina	24
Gambar 2.4. Tampilan <i>Software</i> Avogadro 1.0.1	25
Gambar 2.5. Tampilan <i>Website</i> SwissADME	26
Gambar 2.6. Tampilan <i>Software</i> <i>Discovery Studio Visualizer</i> 2016.....	27
Gambar 3.1. Kerangka Konseptual	28
Gambar 4.1. Skema Alur Penelitian.....	36
Gambar 5.1 Protein (A) 1A52, (B) 3OLS, dengan ligan 17β -estradiol	39
Gambar 5.2 Hasil <i>molecular docking</i> senyawa 11-Aminoundecanoic acid dengan protein (A) 1A52; (B) 3OLS	50
Gambar 5.3 Hasil <i>molecular docking</i> senyawa lauryldiethanolamine dengan protein 1A52; (B) 3OLS	51
Gambar 5.4 Hasil <i>molecular docking</i> senyawa safingol dengan protein (A) 1A52; (B) 3OLS	52
Gambar 5.5 Letak senyawa dalam Boiled Egg	53

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1.** Interpretasi hasil kandungan senyawa ekstrak etanol 96% daun
C. cainito dengan UPLC MS.....69
- Lampiran 2.** Hasil *Molecular Docking* 29 Senyawa terhadap Protein 1A52.....75
- Lampiran 3.** Hasil *Molecular Docking* 29 Senyawa terhadap Protein 3OLS.....78

DAFTAR SINGKATAN

BBB	: <i>Blood Brain Barrier</i>
BM	: <i>Berat Molekul</i>
DNA	: <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
ERE	: <i>Estrogen Response Elements</i>
ER	: <i>Estrogen Receptor</i>
ER α	: <i>Estrogen Receptor Alfa</i>
ER β	: <i>Estrogen Receptor Beta</i>
EGF	: <i>Epidermal Growth Factor</i>
GPR 30	: <i>G Protein-Coupled Receptor 30</i>
HBD	: <i>Hydrogen Bond Donor</i>
HBA	: <i>Hydrogen Bond Aceptor</i>
IHC	: <i>Immunohistochemistry</i>
IGF- 1	: <i>Insuline-like Growth Factor-1</i>
MDPL	: <i>Meter Diatas Permukaan Laut</i>
MRI	: <i>Magnetic Resonance Imaging</i>
PDB	: <i>Protein Data Bank</i>
QSAR	: <i>Quantitative Structure-Activity Relationship</i>
RMSD	: <i>Root Mean Square Deviation</i>
SMILES	: <i>Simplified Molecular-Input Line-Entry System</i>
TSH	: <i>Terapi Sulih Hormon</i>
TPSA	: <i>Topological Polar Surface Area</i>
USDA	: <i>United States Department of Agriculture</i>
UPLC Qtof MS	: <i>Ultra Performance Liquid Chromatography – Quadropole Time of Flight – Mass Spectrometry</i>

ABSTRAK

Najib, Luqman Alfani. 2021. **Prediksi Senyawa Fitoestrogen yang Berpotensi sebagai Antiosteoporosis pada Ekstrak Etanol 96% Daun *Chrysophyllum cainito* L. terhadap *Estrogen Receptor α* (1A52) dan *β* (3OLS) Secara *In Silico*. Skripsi.** Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Dr. apt. Burhan Ma'arif Z.A., M.Farm. ; Pembimbing II: Ria Ramadhani Dwi Atmaja, S.Kep., NS., M.Kep.; Penguji: Meilina Ratna Dianti, S.Kep., NS., M.Kep.

Osteoporosis adalah kondisi dimana berkurangnya massa tulang yang nyata dan dapat berakibat menjadi semakin rendahnya kepadatan pada tulang. Hal ini bisa terjadi karena kondisi kekurangan estrogen yang dialami oleh wanita pascamenopause. Salah satu terapi untuk mengatasi penyakit ini adalah menggunakan senyawa fitoestrogen. Senyawa fitoestrogen merupakan senyawa yang memiliki sifat dan khasiat yang mirip dengan hormon estrogen. Salah satu tumbuhan yang diketahui mengandung fitoestrogen adalah *C. cainito*. Kandungan senyawa fitoestrogen dalam tanaman *C. cainito* dapat diprediksi dengan uji *in silico*. Penelitian ini bertujuan untuk memprediksi jenis kandungan senyawa fitoestrogen yang berpotensi sebagai antiosteoporosis dari hasil *metabolite profiling* ekstrak etanol 96% daun *C. cainito* secara *in silico* terhadap ER α dengan ID protein 1A52 dan ER β dengan ID protein 3OLS. Senyawa hasil *metabolite profiling* ekstrak etanol 96% daun *C. cainito* digambar menggunakan *software* ChemDraw Ultra 12.0 dan dioptimasi menggunakan *software* Avogadro 1.0.1 untuk mendapatkan struktur 3D paling stabil. Protein X-ray 1A52 dan 3OLS dari PDB RCSB dipisahkan dari ligand internal, yaitu 17 β -estradiol. Berikutnya dilakukan *molecular docking* pada masing-masing senyawa terhadap kedua protein menggunakan *software* PyRx 0.8 dengan metode AutoDock Vina. Hasil yang didapat divisualisasikan menggunakan *software* Biovia Discovery Visualizer 2016 untuk mencari interaksi agonis yang terjadi, dimana interaksi agonis menunjukkan kemiripan parameter dengan ligan internal yaitu 17 β -estradiol. Senyawa yang memiliki interaksi agonis kemudian dianalisis sifat fisikokimia untuk melihat senyawa dapat diterima oleh tubuh. Hasil penelitian menunjukkan terdapat 6 senyawa yang memiliki interaksi agonis terhadap protein 1A52 dan 7 senyawa yang memiliki interaksi agonis terhadap protein 3OLS. Semua senyawa ini diprediksi memiliki parameter yang sangat mirip dengan 17 β -estradiol dan dapat diterima oleh tubuh sebagai terapi antiosteoporosis.

Kata Kunci : *Chrysophyllum cainito* L., *fitoestrogen*, *antiosteoporosis*, *molecular docking*, *1A52*, *3OLS*

ABSTRACT

Najib, Luqman Alfani. 2021. **Prediction of Phytoestrogen Compounds as Antiosteoporotic Potential in 96% Ethanol Extract of *Chrysophyllum cainito* L. Leaves against Estrogen Receptors (1A52) and (3OLS) In Silico**. Thesis. Department of Pharmacy, Faculty of Medicine and Health Sciences, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University, Malang. Advisor I: Dr. apt. Burhan Ma'arif Z.A., M.Farm. ; Advisor II: Ria Ramadhani Dwi Atmaja, S.Kep., NS., M.Kep.; Examiners: Meilina Ratna Dianti, S.Kep., NS., M.Kep.

Osteoporosis is a condition where there is a marked reduction in bone mass and can result in lower bone density. It occurs because of the condition of estrogen deficiency experienced by postmenopausal women. One of the therapy to treat this disease is phytoestrogen compounds. Phytoestrogen compounds are compounds that have properties and merits similar to the hormone estrogen. One of the plants known to contain phytoestrogens is *C. cainito*. *In silico* test was used to predict the phytoestrogen compounds in this plant. This study aims to predict the type of phytoestrogen coterapimpounds that have the potential for anti-osteoporosis from the metabolite profiling of 96% ethanol extract of *C. cainito* leaves in silico against ER α with protein ID 1A52 and ER β with protein ID 3OLS. Compounds resulting from its metabolite profiling were drawn using ChemDraw Ultra 12.0 software and optimized using Avogadro 1.0.1 software to obtain the most stable 3D structure. X-ray proteins 1A52 and 3OLS of PDB RCSB were separated from the internal ligand, namely 17 β -estradiol. Next, molecular docking was performed on each compound against the two proteins using PyRx 0.8 software using the AutoDock Vina method. Then, Biovia Discovery Visualizer 2016 was used to look for occurred agonist interactions, where agonist interactions showed similar parameters to the internal ligand, namely 17 β -estradiol. Agonist interaction compounds are then analyzed for physicochemical properties to see which one can be accepted by the body. The results showed that six compounds had agonist interactions with 1A52 protein and seven compounds with 3OLS proteins. These compounds have been predicted to have similar parameters to 17 β -estradiol and can be accepted by the body as anti-osteoporosis therapy.

Keywords: *Chrysophyllum cainito* L., phytoestrogens, antiosteoporosis, molecular docking, 1A52, 3OLS

مستخلص البحث

نجيب، لقمان ألفتان. 2021. التوقع لقدرة مركبات فيتويستروغنز كمضادة لهشاشة العظام في استخراج الإيثانول 96% من ورقة الكانيتو. ضد مستقبلات هرمون الاستروجين $\alpha(1A52)$ و β (3OLS) في سيليكو. بحث جامعي. قسم الصيدلة، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية بمالانج. إندونيسيا. المشرف الأول: د. برهان معارف الماجستير، المشرفة الثانية: ربا رمضان دوي أتماجا الماجستير، المتحنة: مايلينا رأنا ديانتى الماجستير.

هشاشة العظام هي حالة يحدث فيها انخفاض ملحوظ في كتلة العظام ويمكن أن تؤدي إلى انخفاض كثافة العظام. قد يحدث هذا لدى النساء بعد الطمث بسبب نقص الاستروجين. و من الأدوية لهذا المرض هو مركبات فيتويستروجين. هذه المركبات لها خصائص مشابهة بهرمون الاستروجين. ومن النباتات المتوقعة إذ تحتوي على فيتويستروغنز هو *C. cainito* ذلك عن طريق الاختبار حاسوبيا. يهدف هذا البحث إلى التوقع أن نوع مركبات فيتويستروجين قادرة على أن تكون مضادة لهشاشة العظام الناتجة من تشخيص المستقلب لاستخراج الإيثانول 96% من أوراق *C. cainito* في السيليكو ضد $ER\alpha$ ب ID بروتين $1A52$ و $ER\beta$ ب ID بروتين 3OLS. يتم الرسم لمركب التنميط المستقلب لاستخراج الإيثانول 96% من أوراق *C. cainito* باستخدام برنامج ChemDraw Ultra 12.0 ويكون الرسم الأمثل باستخدام برنامج Avogadro 1.0.1 للحصول على البنية ثلاثية الأبعاد الأكثر استقرارا. يتم فصل بروتينات الأشعة السينية $1A52$ و 3OLS من بنك معلومات البروتين RCSB PDB من الليغند الداخلي، وهو 17β -استراديول. وبالتالي يتم التجزئة الجزيئي لكل مركب على البروتينين الاثنيتين باستخدام برنامج PyRx 0.8 بطريقة AutoDock Vina. ثم تعرض صور النتائج عن طريق برنامج Biovia Discovery Visualizer 2016 للبحث عن التفاعلات الناضجة التي تحدث، حيث يظهر التفاعل الناضج على معيار مماثل مع الليغند الداخلي أي 17β -estradiol. ثم يتم تحليل المركبات التي لها تفاعلات ناضجة للخصائص الفيزيائية الكيميائية لمعرفة أن المركبات مقبولة لدى الجسم. والحاصل أن 6 مركبات لها تفاعلات ناضجة على البروتين $1A52$ و 7 مركبات لها تفاعلات ناضجة على بروتينات 3OLS. ويتوقع أن كل هذه المركبات لها معيار مشابه بكثير ب 17β استراديول ومقبول للجسم كعلاج مضادة لهشاشة العظام.

الكلمات الأساسية: *Chrysophyllum cainito L*، فيتويستروغنز، مضادة لهشاشة العظام، التحام الجزيئي، 3OLS, 1A52

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Seiring dengan berjalannya waktu seorang wanita akan mengalami penuaan sehingga akan mencapai fase menopause. Tahap menopause terbagi menjadi tiga tahap yaitu premenopause, menopause, dan pascamenopause (Thurston, 2011). Fase premenopause ditandai dengan tidak teraturnya siklus haid, fase menopause ditandai dengan berhentinya siklus haid selama 12 bulan dan ditandai dengan defisiensi estrogen, dan fase pascamenopause diartikan dengan berhentinya siklus haid lebih dari 12 bulan dan ditandai dengan defisiensi estrogen secara signifikan yang menyebabkan gangguan kesehatan, misalnya gangguan kardiovaskular, neurodegeneratif dan osteoporosis (Ariyanti dan Apriliana, 2016; Asbar dan Mawarpury, 2018; Bulun, 2012). Hal ini terjadi karena hormon estrogen memiliki peran penting didalam proses fisiologis yang bertugas untuk menjaga homeostasis tubuh. (Villa *et al.*, 2016)

Gangguan kesehatan pada wanita pascamenopouse yang memiliki prevalensi paling tinggi yaitu osteoporosis dengan nilai prevalensi lebih dari 30% pada perempuan usia 60-70 tahun dan insiden tersebut dapat meningkat menjadi 70% pada usia 80 tahun keatas. Persentase kejadian osteoporosis pada tahun 2010 terdapat 22-25% perempuan lanjut usia di Indonesia menderita osteoporosis (Ramadani, 2010). Osteoporosis terjadi karena wanita pascamenopouse mengalami defisiensi estrogen, sehingga menyebabkan proses remodeling tulang yang tidak

seimbang (Dipiro *et al.*, 2008). Kejadian tidak seimbangnya *remodeling* tulang karena estrogen reseptor tidak dapat menangkap estrogen yang sudah tidak diproduksi oleh tubuh sehingga akan mengalami penurunan jumlah estrogen reseptor teraktivasi yang ada pada sel tulang (Humaryanto, 2017). Sel osteoblas merupakan salah satu sel tulang yang didalamnya terdapat estrogen reseptor α dan estrogen reseptor β yang nantinya akan teraktivasi ketika berikatan dengan hormon estrogen. Hal ini dapat mempengaruhi kepadatan tulang sehingga wanita pascamenopause lebih rentan terkena osteoporosis (Humaryanto, 2017; *National Osteoporosis Foundation*, 2010).

Haji merupakan rukun Islam yang kelima. Ibadah haji hukumnya wajib bagi yang mampu, salah satunya mampu secara fisik karena kegiatan ibadah haji memerlukan aktivitas fisik yang lebih berat dari aktivitas yang biasa dilakukan sehari-hari. Sedangkan, semakin bertambahnya usia kemampuan fisik seseorang semakin menurun (Kholilurrohman, 2017; Yusri *et al.*, 2020). Hal ini menyebabkan kondisi osteoporosis yang dialami oleh wanita pascamenopause dapat mempengaruhi kegiatan ibadah haji jamaah wanita (Yusri *et al.*, 2020). Prevalensi keberangkatan ibadah haji saat ini sangat didominasi oleh wanita yang sudah mencapai masa pascamenopause (Sakti *et al.*, 2019). Persentase jamaah haji pada tahun 2017, usia 51-60 tahun menduduki proporsi terbanyak yaitu 34,9%, dengan persentase jamaah haji perempuan sebanyak 55,4%, yang mayoritas telah memasuki masa pascamenopause (Sakti *et al.*, 2019). Oleh karena itu perlu adanya suatu terapi alternatif untuk mengurangi kejadian osteoporosis yang disebabkan defisiensi estrogen pada seorang wanita pascamenopause.

Terapi osteoporosis umumnya menggunakan pengganti estrogen dari luar tubuh yaitu terapi sulih hormon yang akan menggantikan estrogen didalam tubuh saat mengalami penurunan (Yang *et al.*, 2012). Namun penggunaan terapi sulih hormon ini dalam jangka panjang memiliki efek samping yang merugikan seperti kanker payudara dan stroke sampai kematian (Lee *et al.*, 2013 ; Jantaratnotai *et al.*, 2013). Munculnya permasalahan efek samping pada terapi sulih hormon maka perlu suatu pengganti yang memiliki efikasi yang hampir sama dan memiliki keamanan yang lebih terjamin (Jantaratnotai *et al.*, 2013).

Efek samping yang terjadi pada penggunaan terapi sulih hormon menjadikan landasan untuk pengobatan alternatif yang memiliki efek samping rendah. Salah satu penelitian yang menarik untuk dikaji saat ini adalah penelitian mengenai fitoestrogen. Senyawa fitoestrogen yang terdapat dalam tumbuhan dapat disarankan untuk mengganti terapi sulih hormon yang memiliki efek merugikan (Alldredge *et al.*, 2013). Fitoestrogen memiliki struktur dan efek yang mirip dengan estrogen sehingga dapat menggantikan estrogen untuk mengikat estrogen reseptor (Beral, 2003). Maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui kandungan fitoestrogen di dalam suatu tanaman, sehingga nantinya dapat dikembangkan untuk menemukan obat baru.

Penelitian mengenai tanaman didukung dengan firman Allah didalam QS Al An'am ayat 99 yang berbunyi :

وَهُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ نَبَاتَ كُلِّ شَيْءٍ فَأَخْرَجْنَا مِنْهُ خَضِرًا نُخْرِجُ مِنْهُ حَبًّا مُتَرَاكِبًا وَمِنَ النَّخْلِ
 مِنْ طَلْعِهَا قِنْوَانٌ دَانِيَةٌ وَجَنَّاتٍ مِّنْ أَعْنَابٍ وَالزَّيْتُونَ وَالرُّمَّانَ مُشْتَبِهًا وَغَيْرَ مُتَشَبِهٍ لَّنُظَرُوا إِلَىٰ تَمْرِهِ إِذَا أَمَّرَ وَيَنْعِمُ بِهِ
 فِي ذُلِّكُمْ لَأَيُّ لِقَوْمٍ يُؤْمِنُونَ

Artinya :

“Dan Dialah yang menurunkan air hujan dari langit, lalu kami tumbuhkan dengan air itu segala macam tumbuh-tumbuhan, maka kami keluarkan dari tumbuh-tumbuhan tanaman yang menghijau itu butir yang banyak; dan dari mayang kurma mengurai tangkai-tangkai yang menjulai, dan kebun-kebun anggur, dan kami keluarkan zaitun dan delima yang serupa dan yang tidak serupa. Perhatikanlah buahnya di waktu pohonnya berbuah, dan (perhatikan pula) kematangannya. Sesungguhnya, pada yang demikian itu ada tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi orang-orang yang beriman” (QS. Al-An’am/6:99).

Ayat Alqur’an menjelaskan mengenai proses tumbuhnya seluruh tanaman di bumi dengan cara yang hampir sama. Proses tersebut dimulai dari penanaman benih kemudian disiram dengan air hujan, Allah yang menurunkan hujan dari langit, yang menyebabkan tumbuhnya berbagai jenis tanaman yang terdiri dari berbagai ragam bentuk, macam dan rasa (Departemen Agama RI, 2011). Tanaman dengan karakteristik yang berbeda memiliki kandungan senyawa aktif yang berbeda juga. Hal ini merupakan tanda-tanda akan kebesaran Allah (Al-Mahalli, 2010). Maka dari itu penelitian mengenai perbedaan senyawa aktif pada tanaman menjadi acuan proses pembacaan ayat-ayat Allah.

Tanaman yang memiliki potensi untuk dimanfaatkan dalam kehidupan sehari-hari dan dijadikan topik penelitian salah satunya adalah kenitu (*C. cainito*). Buah *C. cainito* dapat dimanfaatkan sebagai makanan sehari-hari karena memiliki rasa yang enak, menyegarkan, dan tekstur yang lembut (Heyne, 1987; Hidayat, 2015). Pemanfaatan buah dan daun *C. cainito* tidak hanya untuk makanan sehari-hari saja, namun buah dan daun *C. cainito* juga banyak dimanfaatkan sebagai pengobatan tradisional yang diyakini berkhasiat mengobati macam-macam

penyakit. Masyarakat di Kuba, Amerika dan Afrika memanfaatkan daun dan buah *C. cainito* untuk mengobati kanker dan diabetes (Morton, 1987; Hidayat, 2015).

Berbagai uji untuk mengetahui kandungan senyawa dalam daun *C. Cainito* telah dilakukan, dan ditemukan bahwa daun *C. cainito* memiliki kandungan senyawa antara lain asam galat, asam ursolat, β -sitosterol, lupeol (Shailajan dan Gurjar, 2014), flavonoid, alkaloid, fenol, sterol, dan triterpenoid (Koffi, 2008 ; Koffi, 2009). Semua senyawa yang terkandung dalam daun *C. cainito* ada yang termasuk dalam senyawa fitoestrogen, diantaranya flavonoid, sterol dan fenol (Yildiz, 2006).

Penelitian yang telah dilakukan sebelumnya mengenai uji *in vivo* pada mencit didapatkan hasil bahwa ekstrak daun *C. cainito* dapat meningkatkan kepadatan tulang mencit, sehingga ekstrak daun *C. cainito* dianggap memiliki aktivitas antiosteoporosis (Ma'arif dan Aditama, 2019). Hal ini menjadikan perlunya penelitian yang lebih lanjut mengenai prediksi senyawa manakah yang mempunyai aktivitas antiosteoporosis. Penelitian untuk memprediksi senyawa yang memiliki aktivitas dapat dilakukan dengan menggunakan studi *in silico*.

Berdasarkan penjelasan diatas maka perlu dilakukan uji secara *in silico* untuk memprediksi aktivitas senyawa pada ekstrak etanol 96% daun *C. cainito*. Metode *in silico* digunakan dengan bantuan perangkat komputer yang dikembangkan dan diterapkan secara luas untuk membantu pengembangan dalam bidang farmakologi (Ekins *et al.*, 2017). Pendekatan *in silico* mempunyai keuntungan biaya yang murah, membutuhkan waktu yang singkat, dan juga bisa menjelaskan mekanisme

yang terjadi apabila suatu senyawa masuk ke dalam tubuh khususnya senyawa bahan alam (Wadood *et al.*, 2013; Sliwoski *et al.*, 2014).

Pendekatan *in silico* dilakukan dengan *molecular docking* (penambatan molekul) untuk menggambarkan ligan yang mengikat protein tertentu dengan orientasi ikatan terbaik (Mukesh dan Kumar, 2011). *Molecular docking* ini bertujuan untuk memprediksi aktivitasnya dan permodelan struktur. Pengamatan senyawa juga dilakukan berdasarkan interaksi dari asam amino (Ekins, 2007), jenis ikatan (Siswandono dan Soekardjo, 1995), *binding affinity* (Hinchliffe, 2008), jarak farmokofor (Wermuth, 2008).

Protein yang digunakan pada uji *in silico* yaitu protein estrogen reseptor α dengan kode 1A52 dan estrogen reseptor β dengan kode 3OLS, protein ini termasuk estrogen reseptor yang berperan dalam regulasi homeostasis sel salah satunya pada sel tulang (Villa *et al.*, 2016; Muchtaridi *et al.*, 2018). Senyawa yang diinginkan ketika melakukan penambatan pada protein 1A52 dan 3OLS adalah senyawa mirip dengan 17β -estradiol (Rettberg *et al.*, 2013). Setelah itu dianalisis fisiko kimia untuk mengetahui senyawa tersebut dapat diterima oleh tubuh dengan melihat parameter TPSA dan 5 Lipinski. (Lipinski *et al.*, 2001).

Berdasarkan latar belakang tersebut perlu dilakukan penelitian mengenai uji *in silico* hasil *metabolite profiling* dari penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Reyhan (2018). Data hasil *metabolite profiling* diuji *in silico* yang terfokus pada ikatan agonis pada tumbuhan yang memiliki kandungan senyawa fitoestrogen. Dilakukannya penelitian ini untuk mengetahui aktivitas senyawa yang terkandung di dalam daun *C. cainito* dan memiliki interaksi agonis antara senyawa hasil

metabolite profiling dengan protein 1A52 dan 3OLS, diharapkan pada penelitian uji *in silico* ini mendapatkan nilai *binding affinity* yang mirip dengan 17 β -estradiol, berikatan dengan asam amino yang mirip dengan 17 β -estradiol, jarak farmakofor dekat dengan 17 β -estradiol dan analisis fisiko kimia dengan melihat parameter TPSA dan 5 Lipinski. Sehingga dengan hasil yang diinginkan diatas dapat memberikan data-data ilmiah sebagai acuan untuk penelitian lebih lanjut yang bermanfaat untuk penggunaannya sebagai tumbuhan obat.

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Apakah terdapat senyawa fitoestrogen hasil dari *metabolite profiling* ekstrak etanol 96% daun *C. cainito* yang bersifat agonis terhadap protein 1A52?
2. Apakah terdapat senyawa fitoestrogen hasil dari *metabolite profiling* ekstrak etanol 96% daun *C. cainito* yang bersifat agonis terhadap protein 3OLS?

1.3. Tujuan Penelitian

1. Memprediksi adanya senyawa fitoestrogen hasil dari *metabolite profiling* ekstrak etanol 96% daun *C. cainito* yang bersifat agonis terhadap protein 1A52.

2. Memprediksi adanya senyawa fitoestrogen hasil dari *metabolite profiling* ekstrak etanol 96% daun *C. cainito* yang bersifat agonis terhadap protein 3OLS.

1.4. Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Mengetahui kebenaran prediksi senyawa fitoestrogen pada ekstrak etanol 96% daun *C. cainito* yang memiliki aktifitas antiosteoporosis sehingga dapat dijadikan acuan untuk penelitian berikutnya dan dapat dikembangkan sebagai obat baru yang bersifat antiosteoporosis.

1.4.2. Manfaat praktis

Data dari hasil penelitian ini dapat dijadikan landasan bahwa daun *C. cainito* dapat dijadikan sebagai tumbuhan obat antiosteoporosis yang bisa dimanfaatkan oleh masyarakat.

1.5. Batasan Penelitian

1. Senyawa yang digunakan untuk *molecular docking* adalah senyawa hasil dari metabolit profiling UPLC QToF-MS/MS
2. Protein yang digunakan adalah protein *Xray* dengan kode protein 1A52 untuk ER α dan 3OLS untuk ER β dari RCSB
3. Software yang digunakan adalah Avogadro 1.0.1, *SwissADME*, *Biovia Discovery Studio Visualizer 2016* dan *PyRx 0.8* metode *AutoDock Vina*.
4. Interaksi antara ligan dan reseptor yang diamati adalah ikatan agonis.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Tanaman (*C. cainito*)

2.1.1. Klasifikasi *C. cainito*



Gambar 2.1 Tanaman *C. cainito*

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta

Kelas : Magnoliopsida

Ordo : Ebenales

Famili : Sapotaceae

Genus : *Chrysophyllum L*

Spesies : *Chrysophyllum cainito L*

(USDA, 2004)

2.1.2. Morfologi *C. cainito*

Tanaman *C. cainito* baik tumbuh di daerah lembab dan curah hujan yang tinggi dengan ketinggian 5-1000 mdpl. *C. cainito* termasuk salah satu jenis tanaman

yang berhabitus pohon dengan tinggi sekitar 10-30 meter, dan memiliki umur yang menahun (perennial). Tanaman *C. cainito* termasuk tumbuhan hermafrodit (*self-fertile*) dan tergolong family *sapotaceae* (Heyne, 1987).

Tanaman *C. cainito* memiliki akar tunggang, berbatang kayu, berbentuk silindris, tegak, memiliki permukaan yang bergaris kasar, kulit batangnya berwarna abu-abu gelap hingga keputihan, dan bagian-bagian pohon dari *C. cainito* ini banyak mengeluarkan lateks. Tanaman ini juga memiliki bunga yang berada pada ketiak daun, berupa kuantum bunga kecil bertangkai panjang dengan klompok 5-35, berwarna kekuningan hingga putih lembayung. Memiliki kelopak sebanyak 5 helai yang berbentuk bundar menyerupai bundar telur, dan mahkota berbentuk tabung bercuping 5, panjang sampai 4 mm (Das *et al.*, 2010).

Pohon *C. cainito* tumbuh buah ketika pohon sudah berumur 5-6 tahun. Pohon *C. cainito* di Jawa musim puncak berbuah pada saat musim kemarau. Buah *C. cainito* memiliki bentuk bulat, berdiameter 5-10 cm, berkulit tebal dan mengkilap, berwarna hijau kekuningan hingga coklat keunguan, banyak mengandung lateks, dan kulit tidak bisa dimakan. Daging buah berwarna putih lembut, manis mengandung banyak sari buah, jika di potong melintang bulat bentuknya seperti bintang. Memiliki biji yang setiap buah berisi 3-10 butir, berbentuk lonjong agak bulat, berwarna coklat sampai hitam, panjang sekitar 1 cm dan teksturnya biji nya keras (Orwa *et al.*, 2009).

Daun *C. cainito* memiliki daun tunggal dengan panjang 9-14 cm dan lebar daun 3-5 cm. Daun *C. cainito* berwarna hijau di bagian atas dan berwarna coklat agak keemasan di bagian bawah. Setiap daun *C. cainito* memiliki ciri ciri berbentuk

lonjong, memiliki pangkal dan ujung yang meruncing, tepi yang rata, dan pertulangan yang menyirip (Koffi *et al.*, 2009).

2.1.3. Kandungan *C. cainito*

Buah *C. cainito* setelah di isolasi dan diidentifikasi mempunyai senyawa metabolit sekunder yang mengandung antioksidan yaitu asam gulat, myrisitrin, kuersitrin, epikatekin, katekin, galokatekin, dan epigalokatekin (Luo *et al.*, 2002). Buah *C. cainito* juga mengandung banyak gizi seperti yang di analisis oleh seorang ahli gizi diantaranya yaitu karbohidrat, serat dan protein. Selain itu juga memiliki berbagai macam vitamin diantaranya niacin, tiamin, ribloflavin, karoten dan asam askorbat (Morton, 1987). Daun *C. cainito* memiliki kandungan senyawa flavonoid, sterol, fenol, alcohol, triterpenoid (Koffi, 2008; Koffi, 2009), asam gentsiat, β -amirin asetat (Luo *et al.*, 2002), asam ursolat, asam galat, lupeol, dan β -sitosterol (Shailajan dan Gurjar, 2014).

2.1.4. Manfaat *C. cainito*

Pohon *C. cainito* memiliki banyak khasiat, setiap bagian pohon memiliki khasiat tersendiri, misalnya buah, daun, kulit kayu, dan getah nya. Buah *C. cainito* memiliki khasiat mengurangi peradangan pada tenggorokan dan paru-paru. Di salah satu Negara tepatnya di Venezuela memanfaatkan buah *C. cainito* setengah masak untuk menyembuhkan gangguan usus, akan tetapi bila terlalu banyak dapat menimbulkan sembelit. Masyarakat Kuba di Miami menggunakan infus kulit buah yang dianggap kaya akan zat tannin untuk pengobatan stimulant, antikanker, tonik disentri, diare dan menghentikan pendarahan. Biji *C. cainito* memiliki rasa yang pahit akan tetapi juga memiliki manfaat, diantaranya adalah dapat digunkana

sebagai obat abses, obat penurun panas, obat disentri dan obat diuretik (Morton, 1987; Zulaikhah 2015).

2.2. Tinjauan Osteoporosis

Osteoporosis merupakan kondisi dimana berkurangnya massa tulang yang nyata dan dapat berakibat menjadi semakin rendahnya kepadatan pada tulang. Kebanyakan orang tidak mengetahui ketika mengalami osteoporosis tulang akan menjadi semakin lemah, tubuh mendadak mengalami regangan, persinggungan, dan jatuh hingga mengalami patah tulang. Maka dari itu penyakit ini sering disebut penyakit diam-diam (*silent disease*) (Cosman, 2009).

Osteoporosis terjadi apabila tulang mulai berkurang (keropos). Osteoporosis dapat menimbulkan jumlah jaringan tulang yang semakin berkurang dan kehilangan struktur tulang yang normal (mikroskopis tulang). Maka tulang akan menjadi lemah dan mudah patah, hingga mengalami trauma ringan. (Cosman, 2009).

Faktor yang menyebabkan kehilangan massa tulang adalah faktor genetik dan lingkungan (alkohol, merokok, imobilisasi lama, dan obat-obatan.). Terjatuh juga salah satu resiko yang harus di perhatikan, khususnya pada orang tua (Setiyohadi, 2006). Penyebab terjadinya osteoporosis secara spesifik tidak diketahui, akan tetapi terdapat faktor-faktor yang beresiko akan mengalami osteoporosis .(Orwoll, 2002; Guido, 2009; Szulc, 2011).

Faktor - faktor yang beresiko mengalami osteoporosis adalah (Szulc, 2011) :

- a) Keturunan, orang yang mempunyai keturunan osteoporosis akan memiliki tulang yang rapuh dibandingkan dengan orang yang tidak memiliki

keturunan osteoporosis. Faktor keturunan merupakan salah satu penentu kepadatan masa tulang. Maka apabila salah satu anggota keluarga ada yang memiliki penyakit osteoporosis, tidak menutup kemungkinan 50 persen keturunannya juga akan menderita osteoporosis.

- b) Usia, pada orang normal secara progresif kepadatan tulang akan meningkat hingga sekitar usia 34 tahun. Setelah itu kepadatan tulang perlahan-lahan akan mengalami penurunan. Maka dari itu ketika masih muda kepadatan tulang harus dijaga agar ketika tua tidak mengalami osteoporosis.
- c) Jenis kelamin, jenis kelamin wanita lebih dominan menderita osteoporosis dari pada pria, hal ini disebabkan karena menurunnya hormon estrogen sejak usia 35. Dan wanita juga akan mengalami menopause pada usia sekitar 45 tahun, dimana pada masa ini hormon estrogen banyak yang hilang atau mengalami penurunan. Hormon estrogen ini lah yang membantu proses penyerapan nutrisi dibutuhkan tulang.

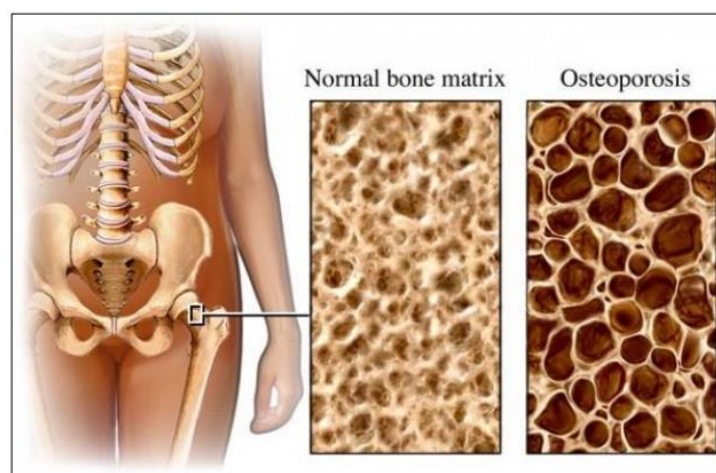
2.2.1. Patofisiologi Osteoporosis

Penderita osteoporosis yang mengalami patah tulang, didiagnosis dengan pemeriksaan fisik, dan *rontgen* tulang. Pemeriksaan yang biasa digunakan pada penderita osteoporosis diantaranya pemeriksaan radiologi, radioisotop, *Magnetic Resonance Imaging* (MRI), serta pemeriksaan dengan densitometer (untuk mengetahui kepadatan tulang) (Junaidi, 2009).

Proses pembentukan tulang yang perlu diperhatikan osteoklas, osteoblas, dan sel-sel endotel. Selama sistem ini seimbang, maka formasi dan resorpsi tulang akan

seimbang juga. Pada usia reproduksi, yang mana fungsi ovarium masih baik, di situ ada keseimbangan antara proses formasi tulang (osteoblas) dan laju proses resorpsi tulang (osteoklas) maka tidak timbul pengeroposan tulang.

Estrogen memiliki sel target utama yaitu sel osteoblas, yang memiliki fungsi untuk melepaskan beberapa faktor pertumbuhan dan sitokin, yang juga berpengaruh pada sel osteoklas (Waters *et al.*, 1999). Estrogen memiliki efek biologis yang diperantarai oleh reseptor pada sel osteoblasik diantaranya: estrogen reseptor α dan β (ER α , ER β). Sub tipe reseptor α dan β inilah yang berperan untuk mengatur homeostasis tulang dan berperan akan terjadinya osteoporosis. Kejadian osteoporosis terjadi akibat adanya gangguan keseimbangan antara proses resorpsi tulang dan formasi tulang, dimana secara seluler disebabkan oleh jumlah dan aktivitas sel osteoklas (sel resorpsi tulang) yang produksinya melebihi dari jumlah dan aktivitas dari sel osteoblas (sel formasi tulang). Keadaan ini mengakibatkan penurunan massa tulang yang berujung mengalami osteoporosis (*National Osteoporosis Foundation, 2010*).



Gambar 2.2. Perbedaan tulang normal dan tulang osteoporosis

2.3. Tinjauan Fitoestrogen

Senyawa yang memiliki struktur serta aktivitas yang menyerupai dengan estrogen maupun estradiol disebut dengan senyawa fitoestrogen. Senyawa fitoestrogen dapat ditemukan dalam tubuh mamalia (Sirotkin dan Harrath, 2014). Beberapa tumbuhan yang mengandung fitoestrogen diantaranya, black cohosh, semanggi, kedelai maupun tumbuhan kacang-kacangan atau polong-polongan lainnya (Michel *et al.*, 2013). Fitoestrogen merupakan dekomposisi alami yang dapat ditemukan pada tumbuhan dan memiliki banyak kesamaan dengan estradiol, dimana estrogen merupakan bentuk alami yang paling poten (Jefferson *et al.*, 2002). Penggunaan terapi dengan senyawa fitoestrogen memiliki efek keamanan yang lebih baik jika dibandingkan dengan terapi dengan menggunakan estrogen sintesis atau obat hormonal pengganti (TSH) (Achdiat, 2003). Fitoestrogen menjadi pengganti alternatif estrogen yang cukup potensial tanpa memiliki efek samping yang berbahaya (Ososki dan Kennelly, 2003; de Villiers, 2009; Yang *et al.*, 2012).

Fitoestrogen dapat berfungsi untuk menggantikan estrogen dalam ikatannya dengan estrogen reseptor. Terdapat beberapa pengertian mengenai fitoestrogen yang masih banyak diperdebatkan, diantaranya ada yang menjelaskan bahwa senyawa golongan fitoestrogen adalah senyawa yang berasal dari tanaman dan memiliki struktur mirip 17β -estradiol, hal tersebut menyerupai senyawa golongan isoflavon, isosterol, triterpenoid dan steroid. Namun seiring berkembangnya waktu, terdapat teori yang menjelaskan bahwa senyawa fitoestrogen adalah senyawa yang berasal dari tanaman yang dapat menggantikan fungsi estrogen dalam ikatannya dengan estrogen reseptor. Pengertian mengenai senyawa fitoestrogen yang kedua

memiliki makna yang lebih luas dari pada pengertian senyawa fitoestrogen yang pertama, hal tersebut dikarenakan pada pengertian yang kedua menjelaskan bahwa senyawa tidak hanya dibatasi dengan struktur yang harus mirip dengan 17β -estradiol, namun hanya dipersyaratkan untuk dapat berikatan dengan estrogen reseptor serta dapat menimbulkan efek terapi yang mirip dengan estrogen (Cos *et al.*, 2003; Ososki dan Kennelly, 2003; Dweck, 2006; de Villiers, 2009). Senyawa fitoestrogen dapat dipercaya bisa mengurangi efek samping dari penggunaan terapi sulih hormon dengan memberikan tingkat keamanan yang lebih baik atau efek samping yang minimal namun dengan aktifitas yang sama (Alldredge *et al.*, 2013; Wells *et al.*, 2015).

2.4. Tinjauan Estrogen

Estrogen merupakan hormon steroid yang memiliki kadar paling tinggi di dalam tubuh seorang wanita. Estrogen pada wanita diproduksi di ovarium serta kelenjar adrenal. Estrogen memiliki tiga macam bentuk antara lain estron, estradiol dan Estriol. Ketiga estrogen tersebut berfungsi untuk menjaga homeostatis tubuh pada seorang wanita, dari ketiga macam bentuk tadi, estradiol adalah bentuk yang paling aktif dan memiliki peranan penting dalam sirkulasi maupun regulasi organ seperti otak, tulang, kardiovaskular, kulit hingga sistem imun (Rettberg *et al.*, 2013; Ma'arif *et al.*, 2018). Namun dengan bertambahnya usia, produksi estrogen semakin menurun hingga ditemukan bahwa estradiol yang mempunyai aktivitas paling tinggi mengalami deaktivasi menjadi bentuk Estron dan Estriol yang kurang aktif. Estradiol juga mengalami penurunan daya ikat dengan estrogen

reseptor yang terjadi karena reaksi sulfasi yaitu perubahan struktur menjadi 17β -estra-1,3,5-trien-3,17-diol 3-sulfat (Cui *et al.*, 2013; Villa *et al.*, 2016).

Secara umum ada empat jenis mekanisme estrogen dalam memunculkan aktivitas terkait hubungannya dengan ER (Estrogen Reseptor), antara lain :

1. *ER-dependent, nuclear-initiated estrogen signaling*

Pada jalur *ER-dependent*, sesuai namanya, efek estrogen akan muncul setelah estrogen berikatan secara spesifik dengan estrogen reseptor yang berada pada inti sel. Proses mekanisme jalur ini berawal dengan masuknya Estrogen melewati membrane plasma yang nantinya akan berikatan dengan $ER\alpha$ dan $ER\beta$ kemudian membentuk ER teraktivasi. Proses berikutnya ER teraktivasi akan memasuki 2 jalur proses yaitu klasik dan non klasik. Estrogen pada proses klasik akan berikatan dengan ERE (*estrogen response elements*) yang akan bertugas untuk transkripsi maupun ekspresi DNA sedangkan Estrogen pada proses non klasik, ER teraktivasi akan berikatan dengan faktor transkripsi yang nantinya akan mensintesis protein tertentu (Cui *et al.*, 2013).

2. *ER-dependent, membran-initiated estrogen signaling*

Jalur ini menggambarkan ketika estrogen memberikan efek setelah berikatan dengan ER pada membran serta melibatkan *second messenger*. ER yang telah memberikan sinyal kepada *second messenger* akan memberikan efek diantaranya adalah

- a. Aktivasi faktor transkripsi dan berpindah ke nukleus setelah itu berikatan dengan promoter DNA dan melakukan sintesis protein tertentu.

- b. Aktivasi reseptor membran yang mengakibatkan rangkaian mekanisme dan ekspresi protein.
- c. Aktivasi jalur mekanisme lain yang memiliki sifat non transkripsional (Cui *et al.*, 2013; Vrtacni *et al.*, 2014).

3. ER-independent

Jalur ini menggambarkan bahwa estrogen memunculkan aktivitas akan tetapi tidak berikatan dengan Estrogen reseptor. Contohnya pada aktivitas enzimatik yang bertugas untuk memunculkan efek antioksidan. Pada kondisi inilah estrogen bekerja untuk mencegah terjadinya apoptosis (Cui *et al.*, 2013; Vrtacni *et al.*, 2014).

4. Ligand-independent activation of ER

Pada keadaan fisiologis normal, ER dapat diaktivasi dalam keadaan *ligand-independent* melalui jalur cascade yang distimulasi oleh berbagai faktor, seperti neurotransmitter, *epidermal growth factor* (EGF), *insuline-like growth factor-1* (IGF- 1), dan senyawa lainnya. ER teraktivasi ketika senyawa-senyawa tersebut berikatan dengan reseptornya masing-masing dan menyebabkan rangkaian reaksi molekular yang diakhiri oleh fosforilasi ER. Ketika itu terjadi, ER akan berikatan dengan *estrogen response elements* (EREs) dan promoter pada DNA, lalu bertranskripsi dan menghasilkan protein tertentu (Cui *et al.*, 2013; Vrtacni *et al.*, 2014).

2.5. Tinjauan *Estrogen Receptor α* dan *Estrogen Receptor β*

Fungsi estrogen yang menyeluruh disebagian besar organ-organ penting dalam tubuh disebabkan adanya ekspresi ER pada organ-organ tersebut. Estrogen

menjaga homeostasis organ-organ tubuh dapat melalui ikatannya dengan ER (*ER-dependent pathway*) maupun tidak (*ER-independent pathway*). Ada dua jenis ER yang diketahui hingga saat ini, yaitu ER α dan ER β . Kedua jenis ER tersebut merupakan hasil ekspresi dari dua jenis gen yang berbeda, jadi bukan merupakan hasil dari gen yang sama namun berbeda varian (Cui *et al.*, 2013).

Estrogen mempunyai peran yang penting pada sirkulasi ataupun regulasi pada sistem organ yang ada pada tubuh wanita (Rettberg *et al.*, 2013; Ma'arif *et al.*, 2018). Namun estrogen harus berikatan dengan protein khusus yang nantinya akan menghasilkan protein dan akan mempengaruhi fungsi dari sel ataupun organ. Protein khusus disini adalah estrogen reseptor, estrogen reseptor berikatan dengan estrogen yang akan membentuk kompleks aktif dan mempengaruhi transkripsi gen dari suatu sel (Johan, 2016).

Estrogen Reseptor pada tubuh wanita memiliki bentuk yang berbeda dilihat dari tempat ditemukan estrogen reseptor. Pada membran sel ditemukan reseptor GPR-30 dan reseptor X. Pada nukleus sel ditemukan ER α dan ER β (Villa *et al.*, 2016). Tidak semua ER α dan ER β diekspresikan dengan jumlah yang sama pada semua organ-organ tubuh, misalnya pada organ hati hanya terdapat ER α saja, pada saluran pencernaan hanya terdapat ER β saja, pada sistem saraf pusat terdapat ER α dan ER β , dan pada tulang juga terdapat ER α dan ER β namun dengan jumlah yang berbeda (jumlah ER β sepuluh kali jumlah ER α). Perbedaan jumlah dan jenis ER yang diekspresikan oleh masing-masing organ ini lah yang membuat fungsi estrogen dalam menjaga homeostasis tiap organ berbeda, sehingga lebih sensitif dalam berikatan dengan Estrogen dan akan mengalami penurunan seiring dengan

terjadinya penambahan usia (Rettberg *et al.*, 2013; Villa *et al.*, 2016). Penelitian lain menggunakan *immunohistochemistry* (IHC) dalam osteoblas, osteosit, dan osteoklas juga menyebutkan bahwa ER β diekspresikan pada tingkat yang lebih tinggi di tulang trabekuler dari pada di tulang kortikal. Sedangkan ER α dideteksi berlawanan yaitu lebih tinggi di tulang kortikal daripada di tulang trabekuler (Khalid and Krum, 2016).

2.6. Metode *In silico*

In Silico merupakan metode yang dibantu dengan perangkat komputer yang diterapkan dan dikembangkan untuk membantu dalam bidang farmakologi. Metode *In silico* mencakup penambatan molekuler (*molecular docking*), penggunaan database, pengolahan data, identifikasi kekerabatan, dan pemodelan (Ekins *et al.*, 2007). Pemilihan studi *in silico* dari pada metode lain yaitu *in vivo* dan *in vitro* dikarenakan metode ini dapat memprediksi ataupun memberikan gambaran mengenai aktivitas dari senyawa atau ligan, selain menggunakan metode *in silico*, metode lain terkadang sulit untuk menjelaskan secara sederhana bagaimana proses mekanisme ligan dan target serta membutuhkan waktu yang lama dan biaya yang mahal (Hardjono, 2013).

Studi *In Silico* berdasarkan pengenalan molekuler dan jenis algoritma, *in silico* dapat dibagi menjadi 2 bentukan diantaranya adalah: (Suharna, 2012)

1. *Structure based design*, prinsip permodelan ini yaitu saling melengkapi antara ligan dan makromolekul seperti gembok dan kunci. Permodelan ini memberikan gambaran kalkulasi energi interaksi antara ligan pada target

yang telah diketahui strukturnya. Permodelan ini umumnya digunakan pada protein target dengan data yang cukup lengkap dan resolusi tinggi (Sliwoski *et al.*, 2014).

2. *Ligand based design*, prinsip permodelan ini yaitu ligan yang ditambahkan memiliki aktivitas yang mirip dengan senyawa yang telah dilakukan pengujian secara *in vivo* maupun *in vitro*. Permodelan ini biasanya dikenal dengan sebutan homologi struktur ligan atau *Quantitative Structure-Activity Relationship* (QSAR) (Sliwoski *et al.*, 2014).

Prinsip dasar pendekatan metode *in silico* adalah melakukan penambatan ligan atau senyawa obat terhadap target berupa makromolekul untuk mendapatkan sifat fisika maupun kimia dari paling optimalnya senyawa obat hingga terburuk (Wadood *et al.*, 2013). *Molecular docking* (penambatan molekul) dapat diibaratkan gembok dan kunci (lock and key), protein sebagai gembok dan ligan sebagai kunci. *Molecular docking* dapat didefinisikan sebagai optimasi yang menggambarkan orientasi dari ikatan terbaik dari ligan yang mengikat protein tertentu (Mukesh dan Kumar, 2011). Ligan adalah molekul kecil yang berinteraksi dengan daerah ikatan (*binding site*) pada protein. Beberapa kemungkinan konformasi dalam ikatan antara ligan dan protein mungkin terjadi, yang disebut mode ikatan (Onkara *et al.*, 2013).

Desain obat modern, *molecular docking* digunakan untuk memahami interaksi obat dengan reseptor dan biasanya digunakan untuk memberikan prediksi mengenai ikatan obat pada protein target. Interaksi yang terjadi pada molekul obat dan protein target akan memberikan hasil energi ikatan (*binding affinity*) dan aktivitas dari molekul obat (Onkara *et al.*, 2013). Energi ikatan hasil *docking*

merupakan parameter yang utama untuk mengetahui kestabilan antara ligan dan protein. Interaksi antara ligan dan reseptor cenderung berada pada kondisi energi yang paling rendah. Molekul berada pada kondisi stabil apabila energi yang dihasilkan semakin rendah. Oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa semakin rendah energi ikatan maka interaksi ligan reseptor semakin bagus (Arwansyah *et al.*, 2014). Interaksi ligan reseptor memiliki dua jenis ikatan yaitu agonis dan antagonis. Ikatan agonis adalah efek respon biologis yang diberikan oleh senyawa yang merangsang aktivitas, sedangkan ikatan antagonis adalah efek respon biologis yang diberikan oleh senyawa yang menurunkan aktivitas (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

2.7. Hukum 5 Lipinski

Hukum Lima Lipinski atau dikenal sebagai “*Rule of 5*” adalah hukum yang digunakan sebagai pertimbangan kemiripan suatu obat atau senyawa kimia dengan aktivitas farmakologis yang memiliki kemungkinan sebagai kandidat obat aktif pada manusia (Lipinski *et al.*, 2001). Lipinski telah menganalisis 2.245 obat dari data *World Drugs Index*. Hasil analisis menyimpulkan bahwa senyawa akan sulit diabsorpsi dan permeabilitasnya rendah apabila mempunyai: berat molekulnya lebih besar dari 500 Da, nilai log lebih besar dari 5, Ikatan Hidrogen Donor (HBD) lebih besar dari 5, dan Ikatan Hidrogen Aseptor (HBA) lebih besar dari 10. Analisis tersebut dikenal sebagai hukum lima Lipinski karena semua nilai merupakan kelipatan dari angka lima. Analisa dengan menggunakan hukum lima Lipinski

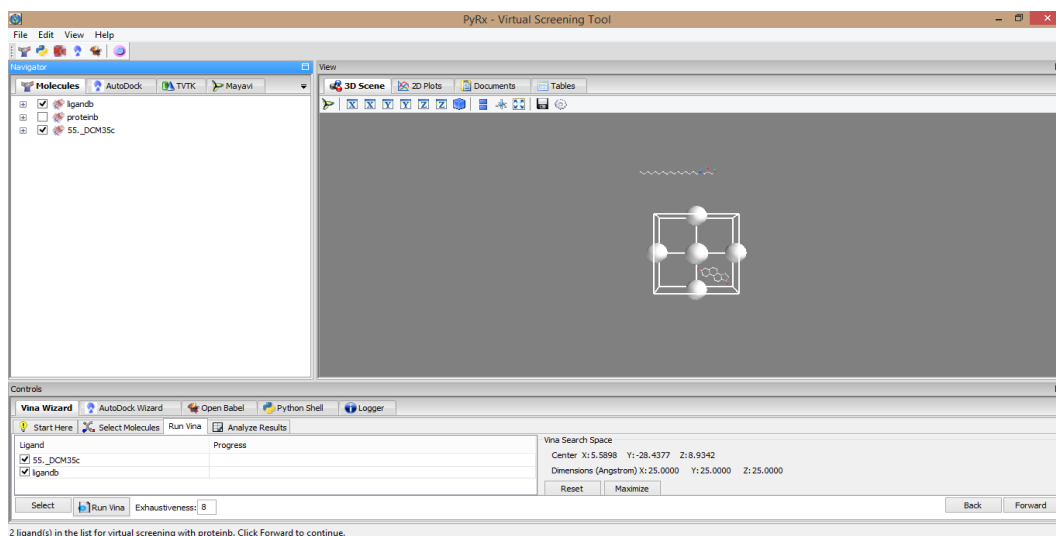
dapat digunakan untuk membuktikan bahwa senyawa yang diuji mudah diabsorpsi dan mempunyai permeabilitas yang baik (Lipinski *et al.*, 2001).

Penelitian lebih lanjut telah menambahkan kriteria lagi untuk membuat bioavailabilitas oral suatu obat menjadi lebih baik. Kriteria tersebut antara lain: *Topological Polar Surface Area* (TPSA). TPSA adalah parameter fisiokimia digunakan untuk memberikan informasi tentang polaritas senyawa. Parameter ini dievaluasi untuk menganalisis sifat penghantaran obat dengan nilai $< 140 \text{ \AA}$ (Chagas *et al.*, 2018).

2.8. Software Penunjang

2.8.1. PyRx 0.8 Metode Autodock Vina

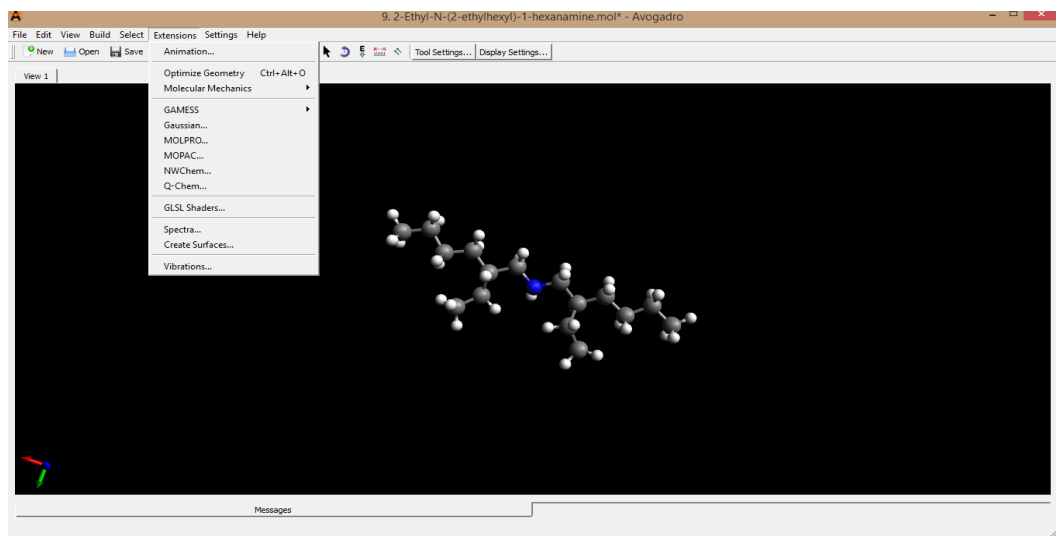
Autodock Vina merupakan aplikasi yang digunakan untuk melakukan *molecular docking* dan *virtual screening* senyawa. Autodock Vina digunakan secara luas untuk bermacam-macam keperluan yang ditujukan untuk memprediksi ikatan maupun afinitas senyawa ligan dengan targetnya dalam hal ini reseptor (Muchtaridi *et al.*, 2018). Autodock Vina memiliki manfaat di bidang farmasi dalam hal untuk mengembangkan obat baru. Autodock Vina merupakan bagian dari Autodock yang sudah dikembangkan, sehingga memiliki kemampuan untuk menampilkan kemiripan visualisasi senyawa. Autodock Vina yang merupakan pengembangan dari aplikasi Autodock memiliki keunggulan pemetaan struktur menggunakan autogrid secara cepat dan otomatis untuk mempersingkat waktu penambatan senyawa terhadap target (Trott dan Olson, 2010).



Gambar 2.3. Tampilan *Software* PyRx 0.8 dengan Metode Autodock Vina

2.8.2. Avogadro 1.0.1

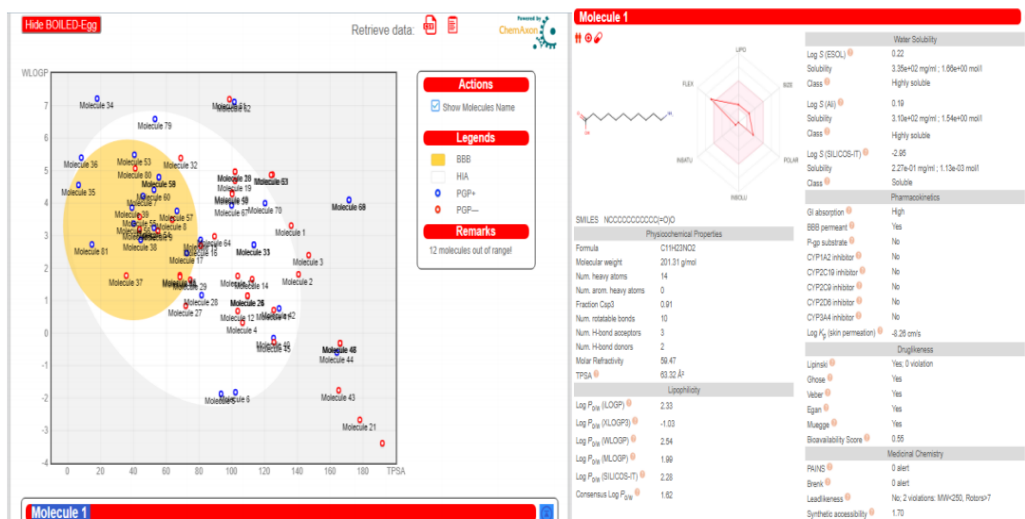
Avogadro dikembangkan pada tahun 2006 yang digunakan sebagai aplikasi pembuatan struktur 3 dimensi. Seiring berjalannya waktu penggunaan aplikasi ini banyak diminati di kalangan praktisi, pelajar, atau pun pengajar ketika menerangkan proses *molecular docking* karena aplikasi ini mudah untuk dipahami. Selain itu aplikasi ini juga dapat memilih bentuk yang paling stabil dari struktur. Sehingga lebih mudah untuk memperoleh data yang valid apabila senyawa uji ditambahkan pada reseptor target. Manfaat aplikasi ini dapat membantu aplikasi Autodock untuk menemukan struktur geometri yang stabil dari struktur kimia sebelum dilakukan penambatan (*docking*) senyawa terhadap targetnya (Hanwell *et al.*, 2012).



Gambar 2.4. Tampilan *Software Avogadro 1.0.1*

2.8.3. Website *SwissADME*

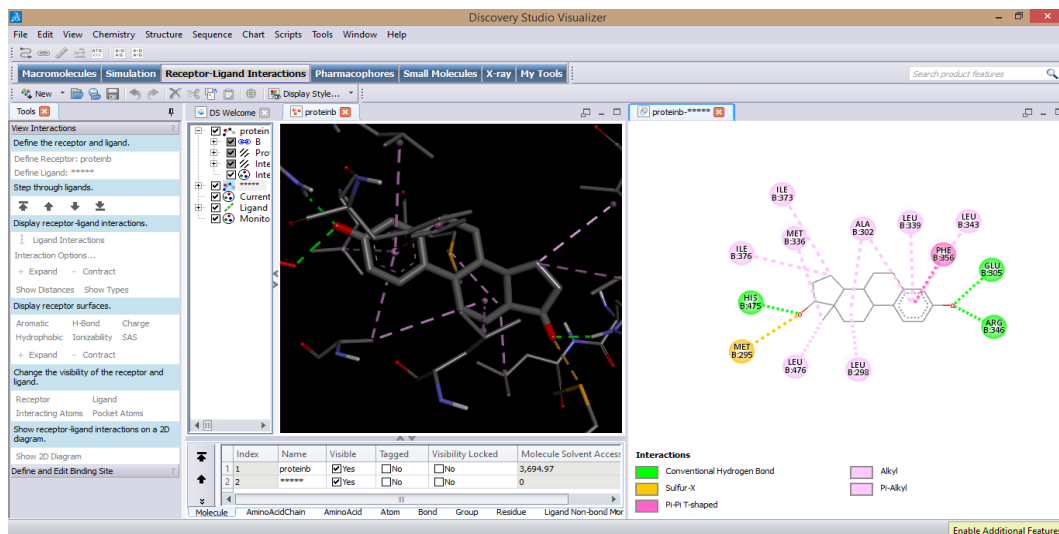
SwissADME merupakan aplikasi berbasis *online* yang dapat diakses secara gratis. Aplikasi ini biasa dikenal dengan *physicochemical descriptor* yang banyak digunakan untuk mengetahui aktivitas dari suatu senyawa berdasarkan strukturnya. Keunggulan aplikasi ini dalam pengembangan obat baru adalah membantu memprediksi aktivitas berdasarkan sifat fisikokimia dan dapat memprediksi sifat senyawa dari aspek farmakokinetik maupun farmakodinamik. *SwissADME* juga bisa memberikan penjelasan mengenai hasil prediksi dari banyak senyawa sehingga lebih mudah untuk di analisis dengan menampilkan mode Boiled EGG. Tampilan dari Boiled EGG ini menggambarkan prediksi kemampuan senyawa dalam terabsorpsi hingga dapat menembus BBB (Daina *et al.*, 2016).



Gambar 2.5 Tampilan website SwissADME

2.8.4. Discovery Studio Visualizer 2016

Discovery Studio Visualizer merupakan perangkat lunak yang digunakan untuk visualisasi struktur molekul untuk melihat suatu gambaran yang interaktif dari struktur. Kemampuan perangkat ini untuk menampilkan gambar yang memiliki kualitas tinggi dari hasil visualisasi struktur senyawa. Pemakaian aplikasi ini bisa digunakan pada Windows dan Linux terintegrasi dengan desktop yang dapat mengakses ke fitur sistem operasi standar seperti sistem berkas, dan *clipboard* (Accelrys Enterprise Platform, 2005).



Gambar 2.6 Tampilan *Software Discovery Studio Visualizer 2016*

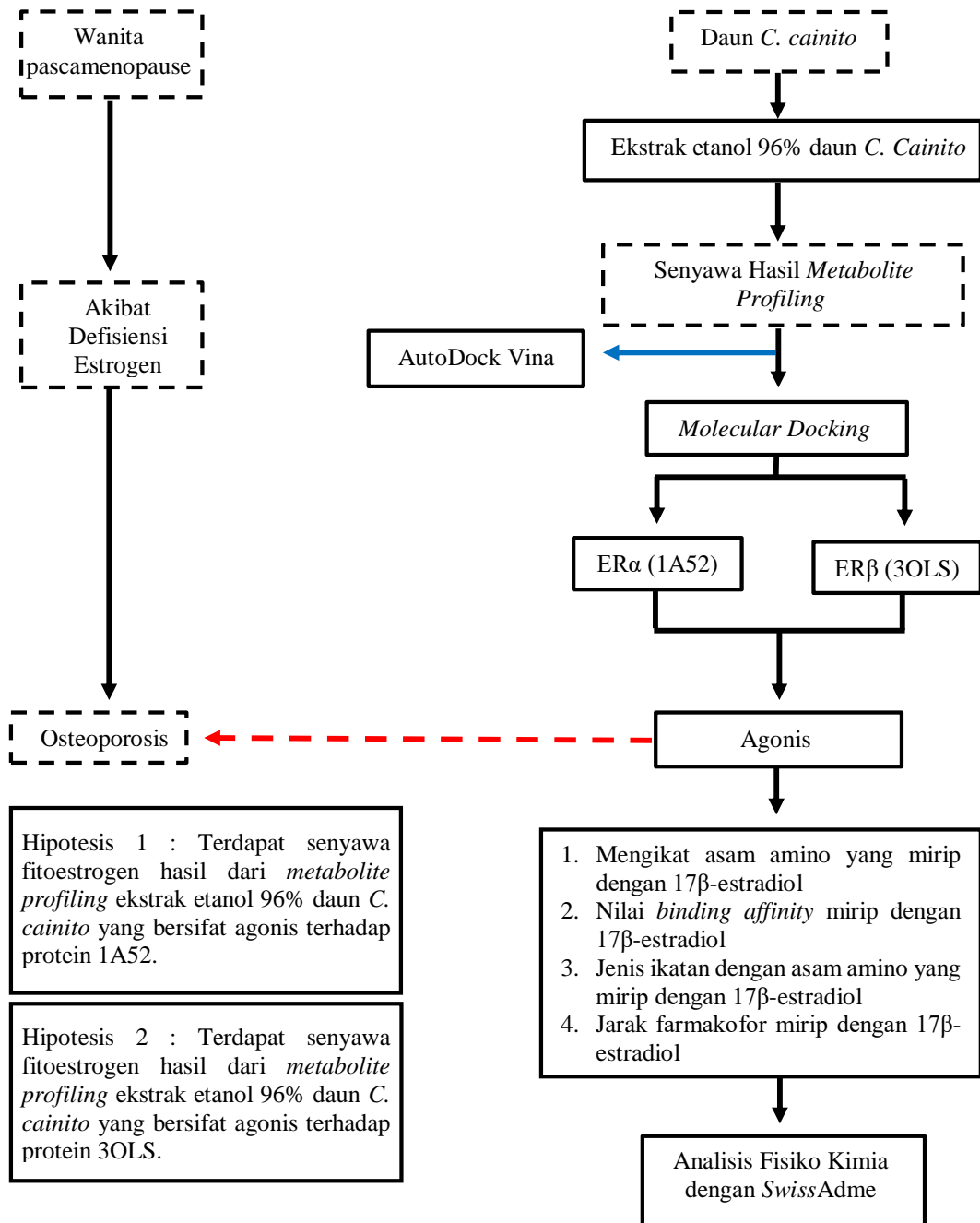
2.9. Hasil *Metabolite Profiling* Ekstrak Etanol 96% daun *C. cainito*

Hasil *Metabolite profiling* ekstrak etanol 96% daun *C. cainito* yang telah dilakukan sebelumnya menunjukkan beberapa senyawa terdeteksi yang dipreparasi dengan pelarut metanol dan diklorometan. Hasil yang terdeteksi pada pelarut metanol yaitu terdapat 16 senyawa yang diketahui nama dan strukturnya dan 5 senyawa yang belum diketahui nama dan strukturnya. Sedangkan pada pelarut diklorometan terdapat 13 senyawa yang diketahui nama dan strukturnya dan 7 senyawa yang belum diketahui nama dan strukturnya (Reyhan, 2018).

BAB III

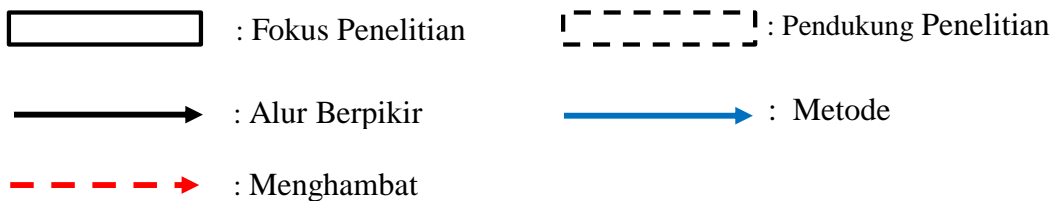
KERANGKA KONSEPTUAL

3.1. Kerangka Koseptual



Gambar 3.1 Kerangka konseptual

Keterangan :



3.2. Uraian Kerangka Konseptual

Wanita lanjut usia akan mengalami masa pascamenopause, yang berarti pada masa ini berkurangnya hormon estrogen yang menyebabkan terjadinya defisiensi estrogen. Terjadinya defisiensi estrogen dapat menyebabkan osteoporosis. Untuk mengatasi terjadinya defisiensi estrogen salah satunya menggunakan fitoestrogen yang memiliki aktivitas mirip dengan hormon estrogen di dalam tubuh. Salah satu tumbuhan yang diidentifikasi memiliki kandungan fitoestrogen adalah daun *C. cainito*. Daun *C. cainito* telah diteliti menggunakan *metabolite profiling* pada berbagai ekstrak.

Kandungan fitoestrogen daun *C. cainito* berdasarkan penelitian sebelumnya ditemukan salah satunya pada ekstrak etanol 96%. Hasil yang didapatkan dari *metabolite profiling* ekstrak etanol 96% daun *C. cainito* antara lain *Caffeine*, *Myricetin*, *Dibutyl phthalate* (Reyhan, 2018). Sehingga dapat dilakukan penelitian selanjutnya yaitu uji *in silico* untuk mengetahui aktivitas senyawa yang terkandung pada ekstrak etanol 96% daun *C. cainito*. Prediksi menggunakan studi *in silico* dilakukan dengan tahapan awal yaitu pengoptimasian senyawa hasil *metabolite profiling* menggunakan aplikasi Avogadro 1.0.1 yang bertujuan untuk mendapatkan

nilai energi minimal geometri struktur, sehingga saat melakukan penambatan dengan protein akan mendapat data yang valid (Hanwell *et al.*, 2012).

Studi *in silico* ini menitik beratkan pada proses penambatan atau *molecular docking* antara liga dengan protein yang kemudian akan menghasilkan interaksi agonis. Aplikasi yang digunakan untuk *molecular docking* adalah PyRx 8.0 dengan metode AutoDock Vina. Reseptor yang digunakan adalah ER α dengan kode 1A52 dan ER β dengan kode 3OLS. Interaksi agonis didapatkan menggunakan aplikasi *Biovia Discovery Studio Visualizer* 2016 dengan parameter tertentu. Parameter yang harus terpenuhi diantaranya *binding affinity*, jarak farmakofor, jenis asam amino yang diikat, jenis ikatan, dan karakteristik fisikokimia (Kelder *et al.*, 1999; Martin, 2005; Daina *et al.*, 2017; Muchtaridi *et al.*, 2018). Dikatakan memiliki ikatan agonis apabila mengikat asam amino yang mirip dengan 17 β -estradiol, nilai *binding affinity* mirip dengan 17 β -estradiol, jenis ikatan dengan asam amino yang mirip dengan 17 β -estradiol, jarak farmakofor mirip dengan 17 β -estardiol. Setelah itu dianalisis fisiko kimia dengan *webtool SwissADME* untuk meramalkan aktivitas suatu senyawa berdasarkan strukturnya (Daina and Zoete, 2016). Apabila terbukti didalam daun *C. cainito* terdapat senyawa fitoestrogen yang diprediksi memiliki aktivitas antiosteoporosis maka dapat dikembangkan menjadi obat defisiensi hormon estrogen pada wanita pascamenopause dan mengatasi osteoporosis

3.3 Hipotesis

1. Terdapat senyawa fitoestrogen hasil dari *metabolite profiling* ekstrak etanol 96% daun *C. cainito* yang bersifat agonis terhadap protein 1A52.

2. Terdapat senyawa fitoestrogen hasil dari *metabolite profiling* ekstrak etanol 96% daun *C. cainito* yang bersifat agonis terhadap protein 3OLS.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1. Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian ini merupakan eksperimental dengan rancangan *pre experimental one shot case study* berbasis komputer, yaitu studi *in silico* kandungan senyawa fitoestrogen dari ekstrak etanol 96% daun *C. cainito* yang berikatan agonis dengan protein 1A52 dan 3OLS.

4.2. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari 2021. Tempat penelitian studi *in silico* dilakukan di Laboratorium Fitokimia, Departemen Biologi Farmasi, Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

4.3. Sampel Penelitian

Penelitian ini menggunakan sampel :

1. Senyawa hasil *metabolite profiling* ekstrak etanol 96% daun *C. cainito* menggunakan UPLC QtoF MS/MS
2. Reseptor ER α dan ER β menggunakan protein *X-ray* dengan ID 1A52 dan 3OLS dari www.rcsb.org

4.4. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

4.4.1. Variabel Penelitian

Variabel Penelitian yang digunakan adalah senyawa fitoestrogen yang berpotensi sebagai antiosteoporosis dalam ekstrak etanol 96% daun *C. cainito*.

4.4.2. Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Parameter
senyawa fitoestrogen yang berpotensi sebagai antiosteoporosis dalam ekstrak etanol 96% daun <i>C. cainito</i> .	- Memprediksi senyawa fitoestrogen yang berpotensi sebagai antiosteoporosis yang didapatkan dari hasil <i>metabolite profiling</i> ekstrak etanol 96% daun <i>C. cainito</i> secara <i>in silico</i>	- Nilai <i>binding affinity</i> merupakan kemampuan senyawa hasil <i>metabolite profiling</i> ekstrak etanol 96% daun <i>C. cainito</i> untuk berikatan secara stabil dengan protein 1A52 dan 3OLS, dimana selanjutnya dilakukan perbandingan dengan hasil <i>binding affinity</i> 17 β -estradiol. Semakin kecil nilai <i>binding affinity</i> , semakin kecil pula energi yang dibutuhkan untuk berikatan - Asam amino yang diikat merupakan asam amino yang ada pada reseptor estrogen dan dapat berikatan dengan ligan yang sesuai, dimana asam amino yang dapat berikatan dengan 17 β -estradiol adalah asam amino His (Histidin), Arg (Arginin) dan Glu (Glutamin). - Jenis ikatan asam amino merupakan jenis ikatan asam amino yang terjadi akibat proses <i>molecular docking</i> antara protein 1A52 dan 3OLS dengan senyawa hasil <i>metabolite</i>

		<p><i>profiling</i> ekstrak etanol 96% daun <i>C. cainito</i>, dan dibandingkan dengan jenis ikatan asam amino yang terjadi pada 17β-estradiol.</p> <ul style="list-style-type: none">- Jarak farmakofor adalah jarak antara satu gugus farmakofor dengan gugus farmakofor lainnya, dimana gugus farmakofor ini yang bertanggung jawab terhadap efek farmakologi. Semakin mendekati jarak farmakofor antara hasil <i>docking</i> dari senyawa hasil <i>metabolite profiling</i> ekstrak etanol 96% daun <i>C. cainito</i> dengan ligan internal (17β-estradiol) maka semakin mirip aktivitas yang diberikan.- TPSA merupakan parameter fisikokimia yang menunjukkan polaritas senyawa, dimana senyawa yang memiliki nilai TPSA kurang dari 140 Å maka dapat menembus membrane sel dalam tubuh- Kriteria 5 lipinski merupakan kriteria yang apabila terpenuhi syaratnya maka suatu senyawa dikatakan dapat melintasi membran sel dengan baik saat dikonsumsi secara oral. Syarat yang harus dipenuhi yaitu $BM < 500$ Da, $\log P < 5$, ikatan hidrogen donor < 5, dan ikatan hidrogen akseptor < 10.
--	--	--

4.5. Alat dan Bahan

4.5.1. Alat Penelitian

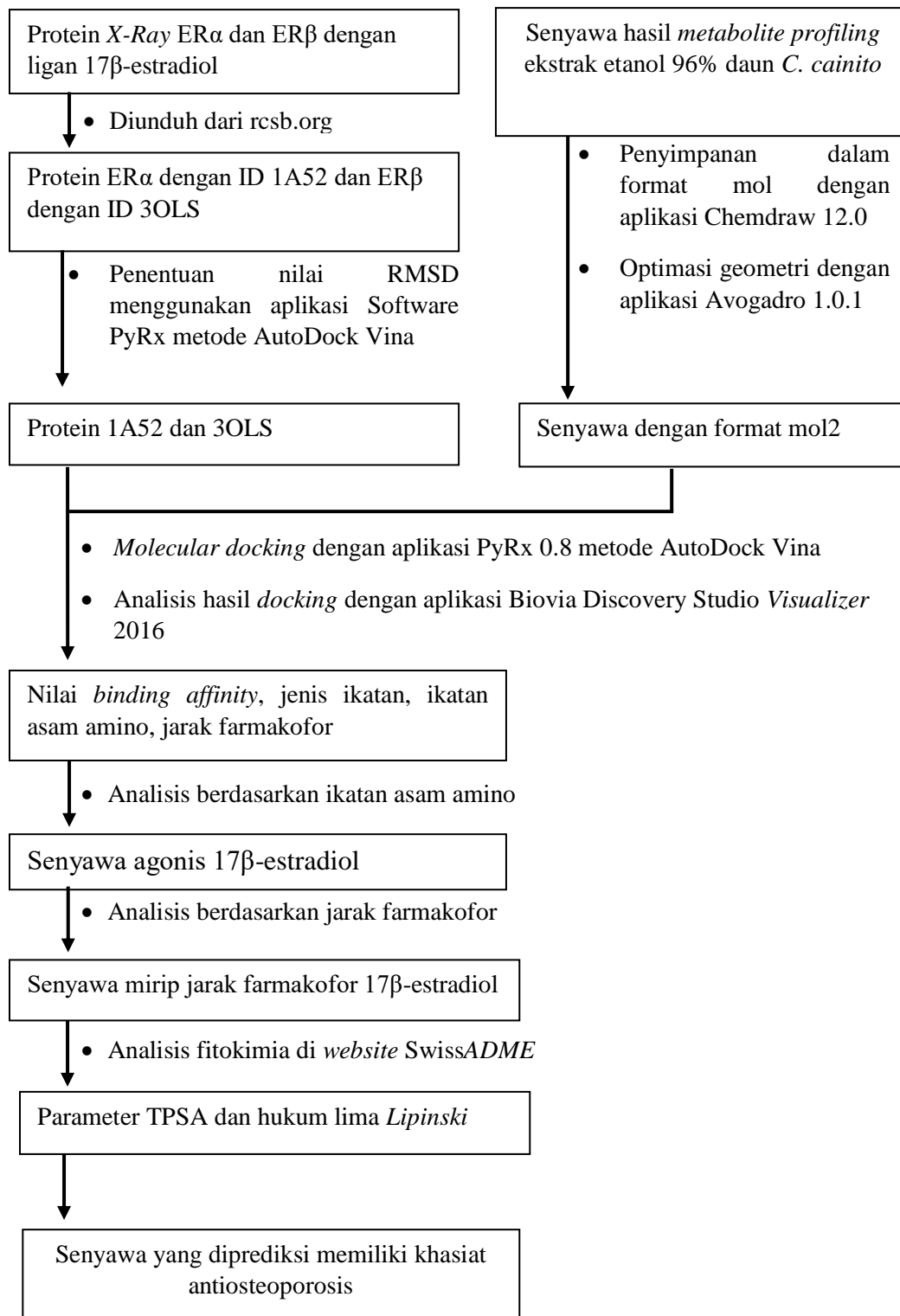
Alat penelitian : Komputer Lenovo ideapad 320S Intel cor i5-8250u
@1,6GHz

4.5.2. Bahan Penelitian

Bahan penelitian terdiri dari :

1. Data *metabolite profiling* dari ekstrak etanol 96% daun *C. cainito*.
2. Reseptor ER α dan ER β menggunakan protein *X-ray* dengan ID 1A52 dan 3OLS dari www.rcsb.org

4.6. Skema Alur Penelitian



Gambar 4.1. Skema Alur Penelitian

4.7. Prosedur Penelitian

4.7.1. Preparasi Sampel

1. Membuka *website protein data bank* (rcsb.org) untuk mengunduh protein *X-ray* ER α dan ER β dengan ligan 17 β -estradiol, dan didapatkan protein ER α dengan ID 1A52 dan ER β dengan ID 3OLS
2. Preparasi protein 1A52 dan 3OLS dengan aplikasi *Biovia Discovery Studio Visualizer* 2016.
3. Membuka aplikasi PyRx 0,8 untuk validasi internal
4. Preparasi senyawa hasil *metabolite profiling* dengan menggambar struktur 2D menggunakan aplikasi Chemdraw 12.0 dan disimpan dalam format mol.
5. Optimasi geometri struktur senyawa 2 dimensi dengan format mol menggunakan aplikasi Avogadro 1.0.1, untuk mendapatkan struktur senyawa 3 dimensi yang paling baik dengan metode MMFF94

4.7.2. Molecular Docking

1. Hasil dari proses preparasi sampel dilakukan *molecular docking*
2. *Proses molecular docking* dilakukan dengan aplikasi PyRx 0.8 metode AutoDock Vina
3. Analisis hasil *molecular docking* menggunakan aplikasi Biovia Discovery Studio Visualizer 2016 untuk mengetahui jarak farmakofor, jenis ikatan dan ikatan asam amino
4. Analisis hasil *docking* yang memiliki kemiripan jarak farmakofor dengan 17 β -estradiol

4.7.3. Analisis Fisikokimia

1. Dilakukan analisis fisikokimia pada senyawa yang diprediksi agonis
2. Analisis fisiko kimia senyawa hasil *metabolite profiling* dengan parameter TPSA, dan hukum 5 *Lipinski* pada *website* SwissADME

4.8. Analisis Data

Analisis data *molecular docking* dilakukan dengan memasukkan hasil dari proses *docking* antara senyawa yang diteliti dengan protein target (1A52 dan 3OLS) ke dalam *software* Biovia Discovery Studio *Visualizer* 2016. Hasil yang didapatkan yaitu parameter *docking*, yang tahap selanjutnya akan dilihat kemiripannya dengan ligan internal (17 β -estradiol) yang ditambahkan dengan protein target. Apabila hasil tersebut memiliki kemiripan antara hasil *docking* dengan ligan internal (17 β -estradiol) yang sudah ditambahkan dengan protein target maka disebut ikatan agonis. Langkah berikutnya yaitu dilakukan tahap analisis fisikokimia.

Tahap analisis fisikokimia dilakukan dengan cara memasukkan SMILES (*simplified molecular-input line-entry system*) dari senyawa yang diketahui memiliki ikatan agonis pada *weptool* SwissADME. Hasil dari analisis ini akan didapatkan sifat fisikokimia dari setiap senyawa dan dianalisis kesesuaiannya dengan hukum 5 *Lipinski* dan nilai TPSA yang dipersyaratkan.

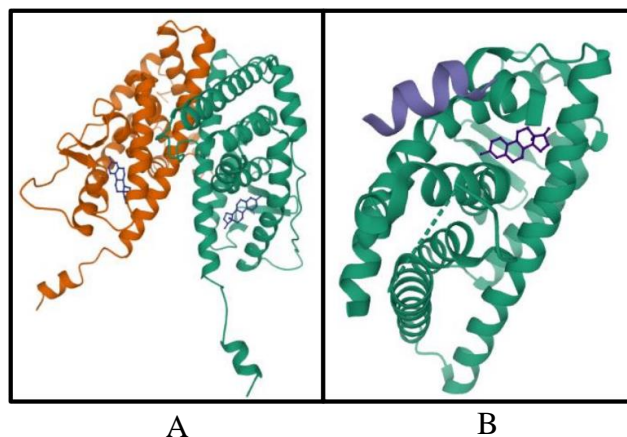
BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Preparasi Sampel

Preparasi sampel pada *In silico* menjadi langkah penting yang dilakukan untuk memperoleh hasil analisis yang optimal (Muchtaridi *et al.*, 2018). Sampel yang dipreparasi dalam penelitian ini adalah protein target yaitu ER α dan ER β dengan ligan internal 17 β -estradiol serta senyawa uji hasil dari *metabolite profiling* UPLC QToF MS/MS ekstrak etanol 96% daun *C. cainito*.

Preparasi sampel yang pertama pada protein target yaitu ER α dan ER β dengan ligan internal 17 β -estradiol, dilakukan dengan cara melakukan unduhan terhadap protein target dari *Protein Data Bank* www.rcsb.org. Protein yang dipilih adalah protein *X-ray* ER α dan ER β dengan kode protein 1A52 dan 3OLS. Kedua kode protein tersebut dipilih karena mengikat 17 β -estradiol dan klasifikasinya sebagai hormon estrogen. Gambar kedua protein dapat dilihat pada **Gambar 5.1**.



Gambar 5.1. Protein (A) 1A52, dan (B) 3OLS dengan ligan 17 β -estradiol

Pemilihan protein yang mengikat ligan internal 17β -estradiol karena ligan ini digunakan sebagai pembanding parameter kemiripannya setelah proses *molecular docking* dan 17β -estradiol merupakan hormon estrogen yang paling banyak diproduksi dalam tubuh (Speroff and Fritz, 2005). Protein yang telah diunduh kemudian dilakukan preparasi menggunakan aplikasi Biovia Discovery Studio *Visualizer* 2016 yang bertujuan untuk memisahkan antara ligan internal dengan proteinnya, dan mempersiapkan protein target yang akan dilakukan penambatan (Muchtaridi *et al.*, 2018).

Setelah dipisahkan ligan dengan reseptornya, dilakukan validasi internal yang digunakan untuk mengetahui nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) antara ligan dengan protein. Nilai RMSD merupakan parameter yang digunakan untuk mengevaluasi apakah aplikasi *docking* yang digunakan sudah sesuai atau tidak berdasarkan jarak yang ditimbulkan interaksi antara ligan internal dengan protein target. Semakin kecil nilai RMSD dengan ketentuan spesifik nilai RMSD $<2 \text{ \AA}$, maka semakin baik aplikasi tersebut digunakan untuk penambatan (Muchtaridi *et al.*, 2018).

Validasi internal dalam penelitian ini dilakukan menggunakan Autodock Vina karena memiliki keunggulan dalam melakukan penambatan yaitu dapat memberikan hasil penambatan mulai terbaik hingga terburuk secara tepat dan cepat (Trott dan Olson, 2010). Hasil yang didapatkan dari proses validasi internal dapat diamati pada **Tabel 5.1**.

Tabel 5.1. Nilai RMSD dari proses validasi internal AutoDock Vina

Jenis Protein Target	Binding Affinity (kcal/mol)	RMSD/ Upper (Å)	RMSD/ Lower (Å)	Rata-rata RMSD (Å)
Protein 1A52	-10.7	0	0	0
	-10.2	0.681	0.681	0.681
	-9.3	2.705	1.071	1.888
	Rata Rata RMSD AutoDock Vina			0.856
Protein 3OLS	-11.1	0	0	0
	-9.9	2.622	1.087	1.854
	-9.6	0.628	0.628	0.628
	Rata Rata RMSD AutoDock Vina			0.827

Berdasarkan hasil validasi internal pada **Tabel 5.1**, didapatkan hasil rata-rata nilai RMSD pada protein target 1A52 sebesar 0,856 dan pada protein target 3OLS sebesar 0,827. Hasil dari validasi internal tersebut membuktikan bahwa aplikasi AutoDock Vina dapat digunakan dalam analisis proses *molecular docking* terhadap protein 1A52 dan 3OLS karena nilai rata-rata RMSD pada kedua protein tersebut $< 2 \text{ \AA}$ (Muchtaridi et al., 2018). RMSD menggambarkan deviasi pose jarak hasil docking dibandingkan dengan pose 3D dari ligan target, jika semakin kecil nilai RMSD, maka semakin baik aplikasi tersebut digunakan untuk proses *molecular docking* (Noviardi dan Fachrurrazie, 2015).

Preparasi sampel yang kedua pada senyawa uji hasil dari *metabolite profiling* UPLC QToF MS/MS ekstrak etanol 96% daun *C. cainito*. Setiap senyawa hasil dari *metabolite profiling* dilakukan preparasi awal menggunakan aplikasi ChemDraw Ultra 12.0 untuk menggambarkan setiap struktur dan mendapatkan kode SMILES dari senyawa tersebut. Aplikasi ChemDraw digunakan karena membantu dalam menggambarkan struktur 2 dimensi dengan memasukkan nama senyawa yang dicari dan memiliki database yang lengkap serta dapat memunculkan

kode SMILES setiap senyawa yang berfungsi untuk analisis fisikokimia (Agustina, 2018; Cousin, 2011; Erickson et al., 2020). Kode SMILES merupakan konversi senyawa kimia dalam bentuk notasi baris yang memudahkan klasifikasi senyawa menggunakan sistem komputerisasi (Witanto, dkk., 2019).

Tabel 5.2. Kode SMILES senyawa

No.	Nama Senyawa	Kode SMILES
1.	4-Amino-5-chloro-N-[2-(diethylamino)ethyl]-2-[2-(methylsulfanyl)ethoxy]benzamide.	<chem>O=C(NCCN(CC)CC)C1=CC(Cl)=C(N)C=C1OCCSC</chem>
2.	Pentaethylene glycol	<chem>OCCOCCOCCOCCOCCO</chem>
3.	Caffeine	<chem>O=C(N1C)N(C)C2=C(N(C)C=N2)C1=O</chem>
4.	Myricetin	<chem>O=C1C(O)=C(C2=CC(O)=C(O)C(O)=C2)OC3=C1C(O)=CC(O)=C3</chem>
5.	(4E)-N-[2,4-Bis(2-methyl-2-butanyl)phenyl]-4-[[4-(diethylamino)phenyl]imino]-1-oxo-1,4-dihydro-2-naphthalenecarboxamide.	<chem>O=C(C(C1=O)=C/C(C2=C1C=CC=C2)=N\C3=CC=C(N(CC)CC)C=C3)NC4=CC=C(C(C(C)C)C)C=C4C(CC)(C)C</chem>
6.	1-(2,5-Dioxo-1-pyrrolidinyl) 4-(2-methyl-2-propanyl) N-[[2-methyl-2-propanyl]oxy]carbonyl]-L-aspartate.	<chem>O=C(O)(C(C)(C)C)C[C@@H](C(ON1C(CC(C1)=O)=O)=O)NC(OC(C)(C)C)=O</chem>
7.	4-{(E)-[(1,7-Diphenyl-2,3,6,7-tetrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinolin-9-yl)imino]methyl}-N,N-dimethylaniline.	<chem>CN(C)C1=CC=C(/C=N/C2=CC3=C(N4CCCC3C5=CC=CC=C5)C(C(C6=CC=CC=C6)CC4)=C2)C=C1</chem>
8.	1-[(6,7-Dimethyl-2-oxo-1,2-dihydro-3-quinolinyl)methyl]-1,3-bis[3-(4-morpholinyl)propyl]thiourea.	<chem>S=C(NCCCN1CCOCC1)N(CC2=CC3=C(NC2=O)C=C(C)C(C)=C3)CCCN4CCOCC4</chem>
9.	N,N',N''-Tris[1-(2,5-dimethylphenyl)ethyl]-1,3,5-benzenetricarboxamide.	<chem>O=C(C1=CC(C(NC(C2=CC(C)=CC=C2)C)=O)=CC(C(NC(C3=CC(C)=CC=C3)C)=O)=C1)NC(C4=CC(C)=CC=C4)C</chem>
10.	N-[4-Ethoxy-3-(1-pyrrolidinylsulfonyl)phenyl]-2-[4-(2-pyrimidinyl)-1-piperazinyl]acetamide.	<chem>O=C(NC1=CC=C(OCC)C(S(=O)(N2CCCC2)=O)=C1)CN3CCN(C4=NC=CC=N4)CC3</chem>
11.	Lauryldiethanolamine	<chem>CCCCCCCCCCCCCN(CCO)CCO</chem>
12.	N-[(2-Isopropoxyethyl)sulfonyl]glycyl-O,2-dimethylserine.	<chem>O=C(O)[C@@](COC)(C)NC(CNS(=O)(CCO)C(C)C)=O</chem>
13.	Safingol	<chem>CCCCCCCCCCCCCCCC[C@H](O)[C@@H](N)CO</chem>
14.	4-[2-(Isopropylamino)-2-oxoethoxy]-3-methoxy-N-[2-(1-piperazinyl)ethyl]benzamide hydrochloride.	<chem>O=C(NCCN1CCNCC1)C2=CC=C(OCC(NC(C)C)=O)C(OC)=C2.[H]Cl</chem>
15.	2,2'-(Hexadecylimino)diethanol.	<chem>CCCCCCCCCCCCCCCCCN(CCO)CCO</chem>
16.	N-(2-Hydroxyethyl)icosanamide.	<chem>CCCCCCCCCCCCCCCCCCCC(NCCO)=O</chem>

mengikat protein tertentu (Mukesh dan Kumar, 2011). Tujuan dari *molecular docking* adalah untuk permodelan struktur dan memprediksi aktivitasnya, selain itu juga untuk meniru peristiwa interaksi suatu molekul ligan dengan protein yang menjadi target aksinya pada uji secara *in vivo* (Kitchen, 2004).

Molecular docking dilakukan menggunakan aplikasi PyRx 0.8 dengan metode AutoDock Vina, metode ini digunakan karena memiliki keunggulan dalam melakukan penambatan yaitu dapat memberikan hasil penambatan mulai terbaik hingga terburuk secara tepat dan cepat (Trott dan Olson, 2010). Tahap dari *molecular docking* yaitu senyawa yang sudah dipreparasi kemudian *didocking* dengan protein target 1A52 dan 3OLS. Hasil dari *molecular docking* dilakukan pengamatan menggunakan aplikasi Biovia Discovery Studio *Visualizer* 2016 dengan membandingkan kemiripan parameter yang terpenuhi dengan ligan internal. Pengamatan hasil *molecular docking* terfokus pada interaksi agonis, dengan melihat beberapa parameter yaitu asam amino yang diikat (Ekins et al., 2007), jenis ikatan (Siswandono and Soekardjo, 1995), jarak farmokofor (Wermuth, 2008), dan *binding affinity* (Hinchliffe, 2008).

Tabel 5.3. Hasil *molecular docking* terhadap protein 1A52

No.	Nama Senyawa	<i>Binding Affinity</i> (kcal/mol)	Rmsd Average (Å)	Interaksi	Asam amino(Jenis Ikatan)	Jarak Farmokofor (Å)
1	17β-estradiol	-10.7	0.000	Agonis	His524(Hidrogen) Glu 353(Hidrogen) Arg394(Hidrogen)	11.119
2	11-Aminoundecanoic acid	-5.2	2.456	Agonis	His524(Hidrogen) Glu353(Hidrogen)	10.438
3	4-Amino-5-chloro-N-[2-(diethylamino)ethyl]-2-[2-(methylsulfanyl)ethoxy]benzamide	-3.7	4.450	Agonis	His524(Unfavorable) Glu353(Carbon)	9.332

No.	Nama Senyawa	Binding Affinity (kcal/mol)	Rmsd Average (Å)	Interaksi	Asam amino(Jenis Ikatan)	Jarak Farmokofor (Å)
4	Lauryldiethanolamine	-5.2	2.242	Agonis	His524(Alkyl) Glu353(Unfavorable) Arg394(Hydrogen)	10.594
5	N-[(2-Isopropoxyethyl)sulfonyl]glycyl-O,2-dimethylserine	-4.6	4.454	Agonis	His524(Hydrogen) Glu353(Carbon)	9.017
6	Safingol	-3.9	5.329	Agonis	His524(Pi-Sigma) Glu353(Hydrogen) Arg394(Unfavorable)	10.776
7	2,2'-(Hexadecylimino)diethanol	-3.9	2.903	Agonis	His524(Alkyl) Glu353(Hydrogen)	9.120

Tabel 5.4. Hasil *molecular docking* terhadap protein 3OLS

No	Nama Senyawa	Binding Affinity (kcal/mol)	Rmsd Average (Å)	Interaksi	Asam amino(Jenis Ikatan)	Jarak Farmokofor (Å)
1.	17 β -estradiol	-10.5	0.000	Agonis	His475(Hydrogen) Glu305(Hydrogen) Arg346(Hydrogen)	10.862
2.	11-Aminoundecanoic acid	-5.5	2.350	Agonis	His475(Hydrogen) Glu305(Hydrogen) Arg346(Unfavorable)	10.462
3.	megalanthoine	-7.2	0.000	Agonis	His475(Hydrogen) Glu305(Carbon)	9.623
4.	Cetylamine	-5.8	0.000	Agonis	His475(Alkyl) Glu305(Hydrogen)	9.973
5.	N-[4-Ethoxy-3-(1-pyrrolidinylsulfonyl)phenyl]-2-[4-(2-pyrimidinyl)-1-piperazinyl]acetamide	55.2	0.000	Agonis	His475(Hydrogen) Glu305(Carbon)	8.674
6.	Lauryldiethanolamine	-5.6	2.688	Agonis	His475(Alkyl) Glu305(Hydrogen)	10.522
7.	N-[(2-Isopropoxyethyl)sulfonyl]glycyl-O,2-dimethylserine	-5.7	0.000	Agonis	His475(Hydrogen) Glu305(Hydrogen)	9.140
8.	Safingol	-4.6	2.764	Agonis	His475(Alkyl) Glu305(Hydrogen)	10.021

Berdasarkan **Tabel 5.3** dan **5.4** menunjukkan bahwa dari 29 senyawa terdapat 6 senyawa yang bersifat agonis terhadap protein 1A52 dan terdapat 7 senyawa yang bersifat agonis terhadap protein 3OLS. Interaksi agonis yang diprediksikan dilihat dari kemiripan parameter yang terpenuhi terhadap ligan internal. Pemilihan interaksi agonis karena dalam penambatan dibutuhkan senyawa yang memiliki aktivitas serupa dengan ligan internal yaitu sebagai fitoestrogen yang mampu bertindak sebagai agen antiosteoporosis (Siswandono dan Soekardjo, 1995).

Parameter pertama yang dilihat adalah asam amino yang diikat antara ligan dan reseptor target. Pada ligan internal asam amino yang diikat terhadap protein 1A52 dan 3OLS adalah Histidin (His), Glutamin (Glu) dan Arginin (Arg) (Giordanetto, 2017; Vasavi et al., 2015). Pemilihan parameter asam amino yang diikat karena dapat memberikan aktivitas yang mirip, apabila asam amino yang diikat oleh senyawa memiliki kemiripan dengan ligan asli pada reseptor (Vasavi et al., 2015). Kemiripan tersebut terjadi ketika suatu senyawa mengikat setidaknya 2 asam amino yang sama dengan ligan internal yaitu His dan Arg atau Glu. Hal ini dikarenakan asam amino tersebut diikat oleh 2 gugus yang berperan menimbulkan aktivitas estrogenik, yaitu gugus hidroksi (OH) (Sitasiwi, 2009; Suhud, 2015). Hasil dari *molecular docking* pada **Tabel 5.3** dan **5.4** menunjukkan bahwa setiap senyawa sudah mengikat minimal 2 asam amino yaitu His dan Arg atau Glu, sehingga setiap senyawa tersebut memiliki kemiripan dengan ligan internal.

Parameter kedua yang dilihat adalah jenis ikatan asam amino. Jenis ikatan asam amino sangat berpengaruh terhadap kestabilan dari ikatan (Giordanetto,

2017). Hasil dari *molecular docking* pada **Tabel 5.3** dan **5.4** menunjukkan jenis ikatan asam amino yang bermacam-macam yaitu hidrogen, alkil, carbon dan unfavorable. Parameter jenis ikatan asam amino ini hanya menggambarkan kekuatan ikatan yang terjadi antara senyawa dengan protein target. Jenis ikatan tersebut memiliki ikatan yang cukup kuat untuk memberikan aktivitas namun tidak terlalu lama berikatan dengan reseptor sehingga memiliki sifat farmakokinetik yang tergolong baik dengan berasumsi bahwa ikatan yang terjadi merupakan gambaran dari teori interaksi pendudukan ligan terhadap makromolekul target (Siswandono dan Soekardjo, 1995).

Parameter ketiga yang dilihat adalah jarak farmakofor yang berfungsi untuk mengetahui jarak antara satu gugus farmakofor dengan gugus farmakofor lainnya, gugus farmakofor ini yang bertanggung jawab terhadap efek farmakologi. (Riaz *et al.*, 2018). Jarak farmakofor dijadikan sebagai salah satu parameter yang penting karena jarak farmakofor yang ada pada ligan internal dijadikan sebagai acuan untuk mengetahui senyawa tersebut memiliki efek farmakologis yang mirip, semakin mirip jarak farmakofor antara ligan internal dengan senyawa hasil *docking* maka semakin mirip aktivitasnya (Ghatol *et al.*, 2010). Nilai jarak farmakofor yang dianjurkan yaitu memiliki selisih 1,0 dari ligan asli (Muchtaridi *et al.*, 2018; Riaz *et al.*, 2018). Hasil dari *molecular docking* pada **Tabel 5.3** dan **5.4** menunjukkan bahwa setiap senyawa memiliki jarak farmakofor yang hampir mirip dengan ligan internal, sehingga setiap senyawa tersebut memiliki aktifitas yang mirip dengan ligan internal.

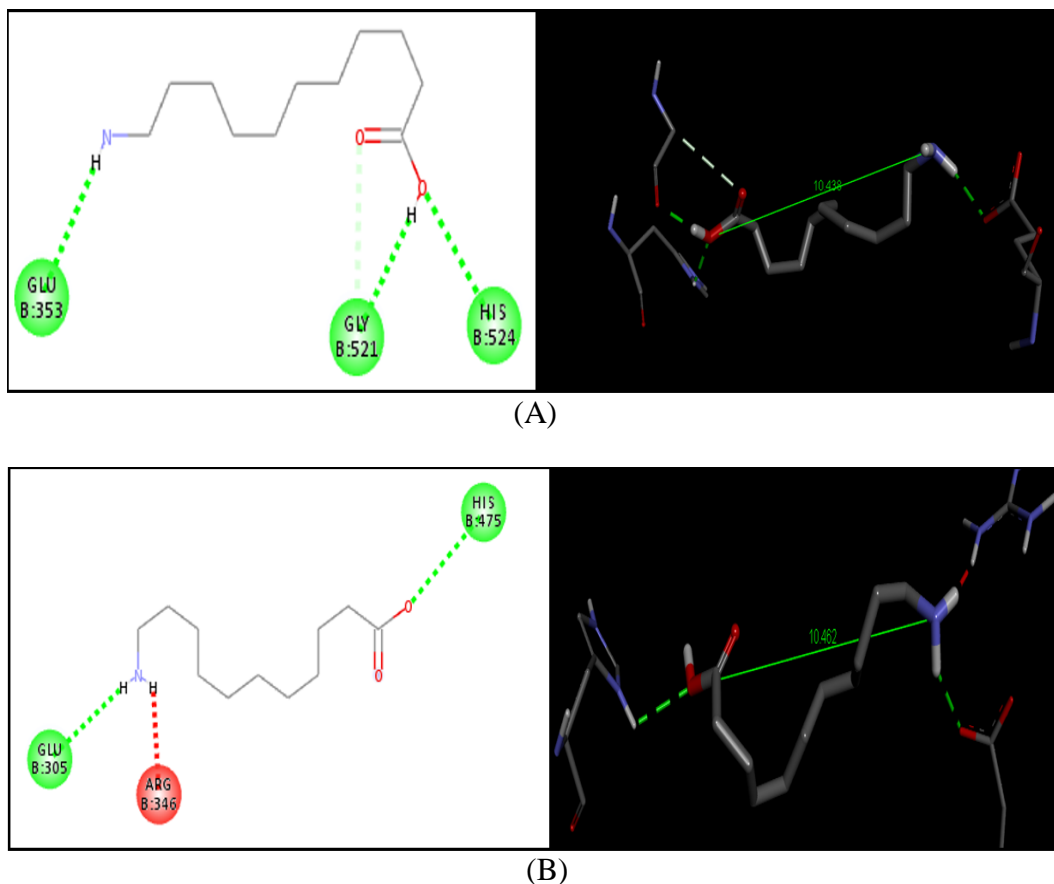
Parameter keempat adalah nilai *binding affinity*. Nilai ini merupakan kemampuan senyawa untuk dapat berikatan dengan protein target dengan memberikan energi bebas paling stabil (Kastritis, 2012). *Binding affinity* digunakan untuk menggambarkan energi pada ikatan kompleks suatu senyawa dengan reseptor, semakin kecil nilai *binding affinity* menunjukkan semakin stabil konformasi senyawa dengan reseptor. Sehingga dapat disimpulkan bahwa semakin kecil nilai *binding affinity* maka semakin kecil energi yang dibutuhkan untuk berikatan (Harish et al., 2013; Kastritis, 2012; Siswandono, 1995). Hasil dari *molecular docking* pada **Tabel 5.3** dan **5.4** menunjukkan setiap senyawa memiliki nilai minus kecuali 1 senyawa yang bernilai positif pada protein 3OLS yaitu N[4Ethoxy-3-(1-pyrrolidinylsulfonyl)phenyl]-2-[4-(2-pyrimidinyl)-1-piperazinyl]acetamide. Nilai *binding affinity* yang jauh dari ligan internal dan bernilai besar memungkinkan tetap diprediksikan agonis namun memiliki ikatan yang kurang stabil terhadap protein target (Harish et al., 2013).

Hasil *molecular docking* dari **Tabel 5.3** dan **5.4** terdapat 6 senyawa yang diprediksi agonis terhadap protein 1A52 dan 7 senyawa yang diprediksi agonis terhadap protein 3OLS. Senyawa yang sudah diprediksi agonis terhadap protein 1A52 dan 3OLS terdapat 3 senyawa yang diprediksi memiliki potensi lebih tinggi sebagai antiosteoporosis, yaitu senyawa 11-aminoundecanoic acid, lauryldiethanolamine, dan safingol. Prediksi tersebut dikarenakan ketiga senyawa tersebut agonis terhadap kedua protein. Protein ER α dideteksi lebih tinggi di tulang kortikal sedangkan ER β tinggi di tulang trabekular. Kedua protein target juga memiliki peran yang sama yaitu menyeimbangkan proses remodeling tulang ketika

berinteraksi dengan hormon estrogen. Hal tersebut menjadikan ketiga senyawa yang agonis terhadap kedua protein dapat saling melengkapi baik di jenis tulang trabekular maupun kortikal (Indrayanti, 2016; Khalid and Krum, 2016).

Senyawa 11-aminoundecanoic acid memiliki rumus molekul $C_{11}H_{23}NO_2$. Senyawa ini termasuk dalam golongan asam amino (Amiruddin, 2018). Hasil dari *molecular docking* senyawa 11-aminoundecanoic acid pada protein 1A52 memiliki kemiripan dengan ligan internal 17β -estradiol pada jarak farmakofor dan jenis ikatan. Jarak farmakofor 11-aminoundecanoic acid (10.438) mendekati jarak farmakofor pada ligan internal (11.119). Sedangkan Jenis ikatan yang diikat pada 11-aminoundecanoic sama dengan ligan internal 17β -estradiol yaitu hidrogen.

Hasil dari *molecular docking* senyawa 11-aminoundecanoic acid pada protein 3OLS memiliki kemiripan dengan ligan internal 17β -estradiol pada jarak farmakofor dan jenis ikatan. Jarak farmakofor 11-aminoundecanoic acid (10.462) mendekati jarak farmakofor pada ligan internal (10.862). Sedangkan jenis ikatan yang diikat pada 11-aminoundecanoic sama dengan ligan internal 17β -estradiol yaitu hidrogen. Hasil *molecular docking* dapat dilihat pada **Gambar 5.2**.



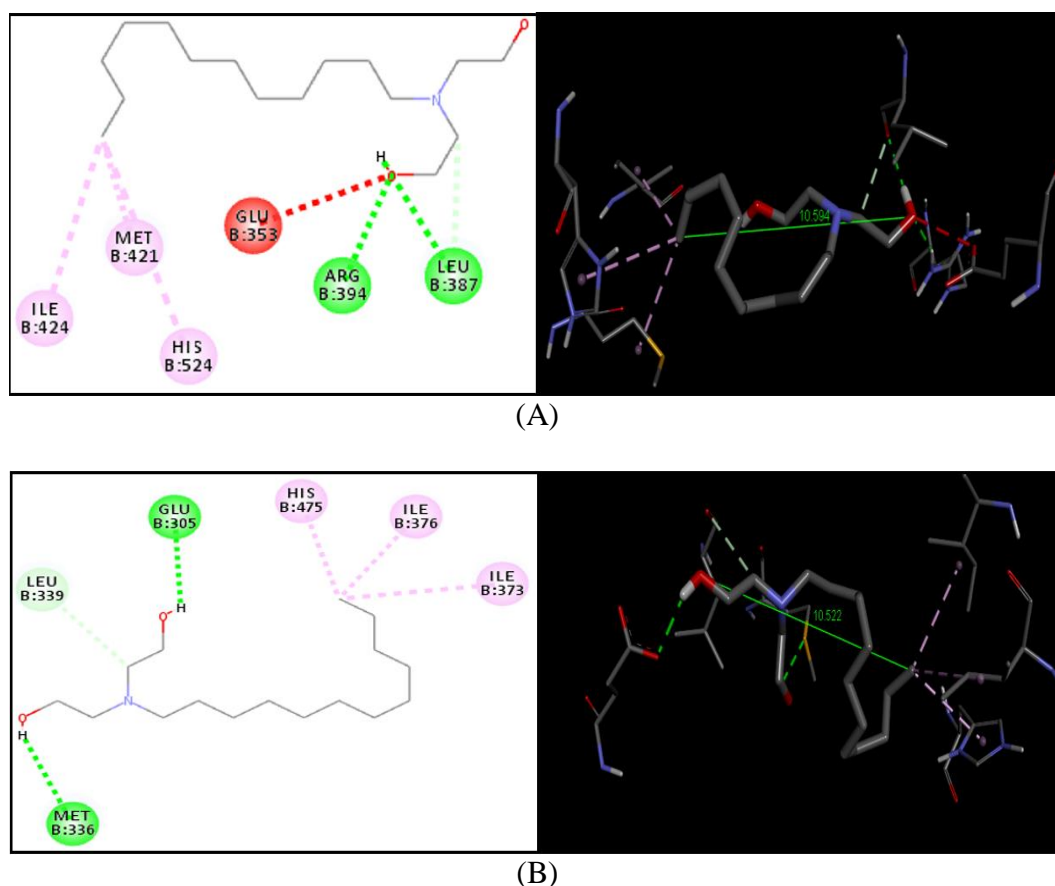
Gambar 5.2. Hasil *molecular docking* senyawa 11-Aminoundecanoic acid dengan protein (A) 1A52; (B) 3OLS

Senyawa selanjutnya adalah lauryldiethanolamine yang memiliki rumus molekul $C_{16}H_{35}NO_2$. Senyawa ini termasuk dalam golongan alkohol (Amiruddin, 2018). Hasil dari *molecular docking* senyawa lauryldiethanolamine pada protein 1A52 memiliki kemiripan dengan ligan internal 17β -estradiol pada jarak farmakofor dan asam amino yang diikat. Jarak farmakofor lauryldiethanolamine (10.594) mendekati jarak farmakofor pada ligan internal (11.119). Sedangkan asam amino yang diikat pada lauryldiethanolamine sama dengan ligan internal 17β -estradiol yaitu (His, Glu, dan Arg).

Hasil dari *molecular docking* senyawa lauryldiethanolamine pada protein 3OLS memiliki kemiripan dengan ligan internal 17β -estradiol pada jarak

farmakofor. Jarak farmakofor lauryldiethanolamine (10.522) mendekati jarak farmakofor pada ligan internal (10.862). Hasil *molecular docking* dapat dilihat pada

Gambar 5.3.

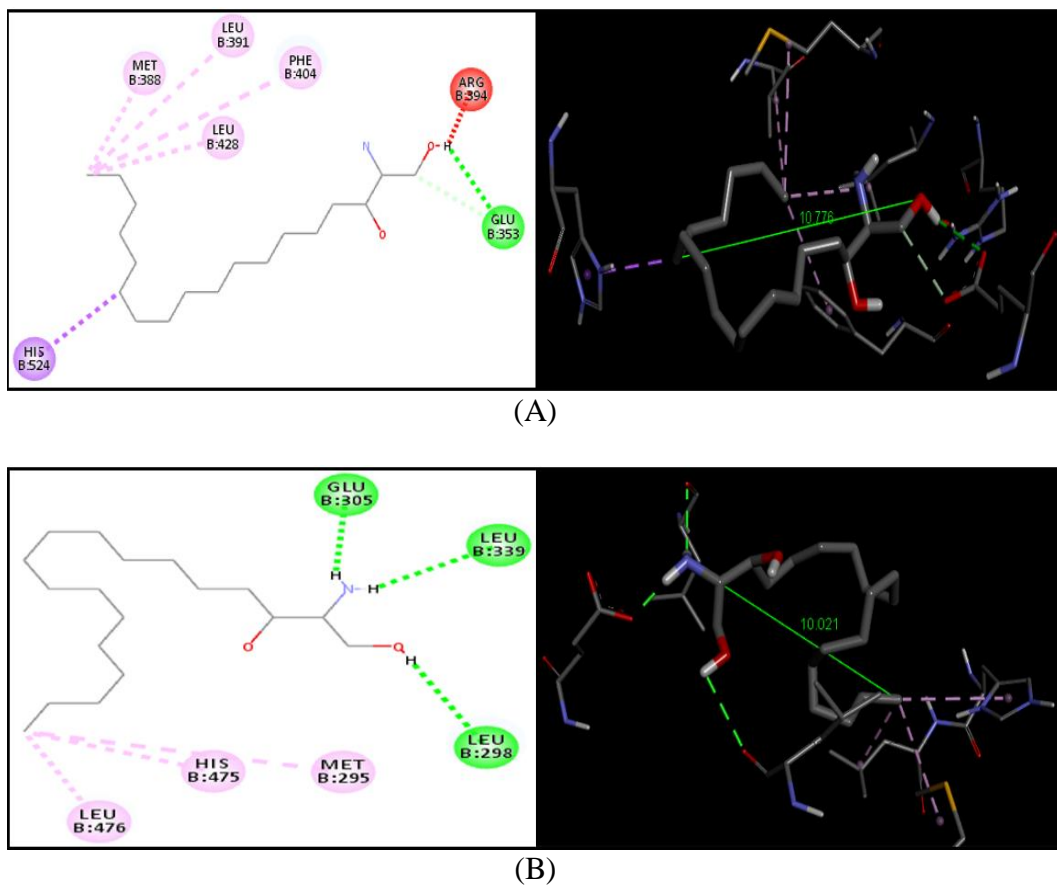


Gambar 5.3. Hasil *molecular docking* senyawa lauryldiethanolamine dengan protein (A) 1A52; (B) 3OLS

Senyawa selanjutnya adalah safingol yang memiliki rumus molekul $C_{18}H_{39}NO_2$. Senyawa ini termasuk dalam golongan sphingolipid (Amiruddin, 2018). Hasil dari *molecular docking* senyawa safingol pada protein 1A52 memiliki kemiripan dengan ligan internal 17β -estradiol pada jarak farmakofor dan asam amino yang diikat. Jarak farmakofor safingol (10.776) mendekati jarak farmakofor pada ligan internal (11.119). Sedangkan asam amino yang diikat pada

lauryldiethanolamine sama dengan ligan internal 17 β -estradiol yaitu (His, Glu, dan Arg).

Hasil dari *molecular docking* senyawa safingol pada protein 3OLS memiliki kemiripan dengan ligan internal 17 β -estradiol pada jarak farmakofor. Jarak farmakofor safingol (10.021) mendekati jarak farmakofor pada ligan internal (10.862). Jenis ikatan yang diikat pada safingol sama dengan ligan internal 17 β -estradiol yaitu hidrogen. Hasil *molecular docking* dapat dilihat pada **Gambar 5.4**.

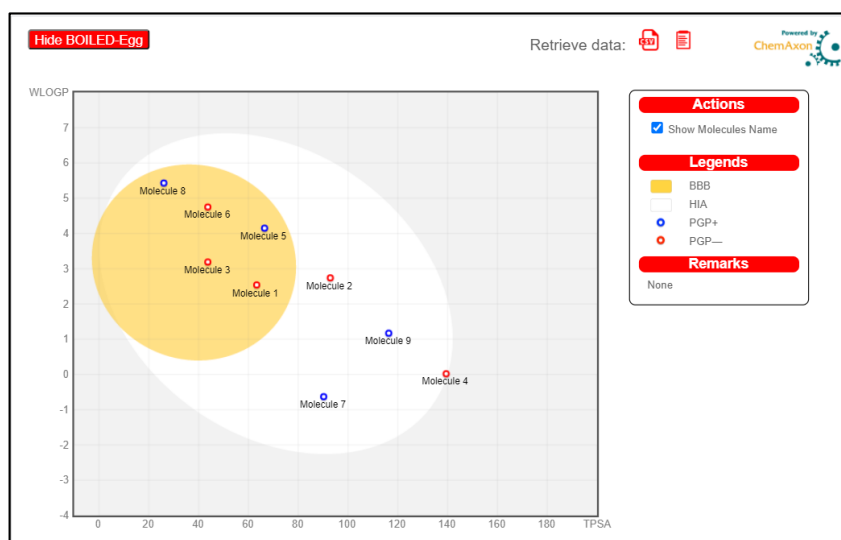


Gambar 5.4. Hasil *molecular docking* senyawa safingol dengan protein (A) 1A52; (B) 3OLS

5.3. Analisis Fisikokimia

Tahap berikutnya setelah proses *molecular docking* yaitu analisis fisikokimia. Analisis fisikokimia dilakukan terhadap senyawa hasil dari proses *molecular docking* yang memiliki ikatan agonis terhadap protein 1A52 dan 3OLS. Hasil Analisis fisikokimia dilakukan menggunakan webtool SwissADME dengan cara memasukkan kode SMILES setiap senyawa pada webtool. Webtool ini dipilih karena dapat memprediksi tidak hanya aktivitasnya berdasarkan sifat fisikokimia tetapi juga dapat memprediksi sifat dari senyawa tersebut ditinjau dari aspek farmakokinetik maupun farmakodinamiknya (Daina *et al.*, 2016).

Webtool SwissADME ini juga dapat mempresentasikan hasil prediksi dari banyak senyawa sehingga lebih mudah dalam tahapan analisisnya dengan menampilkan mode *Boiled EGG* yang menunjukkan letak senyawa yang diperumpamakan dengan bulat telur. Tampilan *Boiled EGG* tersebut dapat menggambarkan secara visual sederhana prediksi kemampuan senyawa dalam terabsorpsi hingga dapat menembus sawar darah otak (Daina *et al.*, 2016).



Gambar 5.5. Letak senyawa dalam Boiled EGG

Berdasarkan **Gambar 5.5** Menunjukkan bahwa senyawa-senyawa yang diprediksi memiliki ikatan agonis terhadap protein 1A52 dan 3OLS masuk ke dalam bulatan telur kuning dan putih. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat 4 senyawa pada daerah putih yang berarti memiliki probabilitas tinggi pada penyerapan saluran pencernaan dan 5 senyawa pada daerah kuning yang berarti memiliki probabilitas tinggi pada penetrasi otak (Daina *et al.*, 2017).

Analisis fisikokimia selanjutnya yaitu nilai TPSA. TPSA merupakan besaran nilai yang menjelaskan kemampuan yang dimiliki suatu senyawa untuk dapat menembus membran (Kelder *et al.*, 1999; Martin, 2005). Nilai TPSA senyawa yang dibutuhkan untuk memenuhi kriteria yaitu $\leq 140 \text{ \AA}^2$. Apabila senyawa memenuhi kriteria nilai TPSA maka dapat dinyatakan bahwa senyawa tersebut dapat menembus membran sel tubuh (Chagas *et al.*, 2018).

Analisis fisikokimia selanjutnya yaitu hukum 5 Lipinski. Hukum ini memprediksi kemiripan senyawa dengan aktivitas biologis tertentu yang dirancang untuk pemberian dengan rute oral (Daina *et al.*, 2016). Hukum ini memiliki 4 parameter yang apabila memenuhi parameter tersebut maka senyawa itu dapat diabsorpsi dengan baik oleh tubuh secara oral (Lipinski, 2001). Parameter tersebut adalah: (1) berat molekul $\leq 500 \text{ g/mol}$, suatu senyawa yang memiliki berat molekul lebih dari 500 g/mol tidak dapat berdifusi menembus membran sel dengan baik. (2) $\log P \leq 5$, nilai $\log P$ yang semakin besar, maka semakin hidrofobik molekul tersebut. Molekul yang memiliki sifat terlalu hidrofobik cenderung memiliki tingkat toksisitas yang tinggi karena akan tertahan lebih lama pada lipid bilayer. (3) $\text{HBD} \leq 5$, dan (4) $\text{HBA} \leq 10$, jumlah donor dan akseptor ikatan hidrogen

mendeskrripsikan semakin tinggi kapasitas ikatan hidrogen, maka semakin tinggi energi yang dibutuhkan agar proses absorpsi dapat terjadi (Lipinski, 2001; Rachmania, dkk., 2018).

Tabel 5.5. Hasil analisis fisikokimia senyawa agonis

Nama Senyawa	TPSA ≤ 140	Lipinski				
		BM (g/mol) ≤ 500	LOGP ≤ 5	H-bond acceptors ≤ 10	H-bond donors ≤ 5	“Yes” or “No”
11-Aminoundecanoic acid	63.32	201.31	1.99	3	2	Yes
4-Amino-5-chloro-N-[2-(diethylamino)ethyl]-2-[2-(methylsulfanyl)ethoxy]benzamide	92.89	359.91	2.25	3	2	Yes
Lauryldiethanolamine	43.70	273.45	2.65	3	2	Yes
N-[(2-Isopropoxyethyl)sulfonyl]glycyl-O,2-dimethylserine	139.41	340.39	-1.66	8	3	Yes
Safingol	66.48	301.51	3.13	3	3	Yes
2,2'-(Hexadecylimino)diethanol	43.70	329.56	3.59	3	2	Yes
megalanthoine	90.23	301.38	0.18	6	3	Yes
Cetylamine	26.02	241.46	4.45	1	1	Yes
N-[4-Ethoxy-3-(1-pyrrolidinylsulfonyl)phenyl]-2-[4-(2-pyrimidinyl)-1-piperazinyl]acetamide	116.35	474.58	0.27	8	1	Yes

Berdasarkan **Tabel 5.5** menunjukkan bahwa terdapat 9 senyawa yang diprediksi agonis terhadap protein 1A52 dan 3OLS memiliki sifat fisikokimia yang dapat diterima oleh tubuh. Hal ini dapat dilihat dari nilai TPSA yang memenuhi syarat yaitu $\leq 140 \text{ \AA}^2$ dan hukum 5 Lipinski yang menyatakan “yes”. Senyawa yang telah diprediksikan agonis ER dan memiliki sifat fisikokimia yang memenuhi syarat, maka dapat diprediksi bahwa senyawa-senyawa tersebut berpotensi sebagai antiosteoporosis dengan mekanisme ER-dependent. Pada jalur ER-dependent, efek estrogen akan muncul setelah estrogen berikatan secara spesifik dengan ER (Cui *et al.*, 2013).

5.4. Potensi Antiosteoporosis dari Daun *C. cainito*

Hasil *in silico* dari senyawa ekstrak etanol 96% daun *C. cainito* yang berikatan agonis terhadap protein 1A52 dan 3OLS diprediksi memiliki peran sebagai fitoestrogen, karena memiliki kemiripan dengan 17 β -estradiol. Peran estrogen dapat digantikan oleh fitoestrogen ketika mengalami defisiensi estrogen di dalam tubuh salah satunya adalah menyeimbangkan proses *remodeling* tulang antara resorpsi yang diperankan osteoklas dan pembentukan tulang yang diperankan osteoblas (Yang *et al.*, 2012). Ketidakseimbangannya proses *remodeling* tulang inilah yang akan menyebabkan terjadinya osteoporosis (Humaryanto, 2017).

Kejadian tidak seimbanginya *remodeling* tulang terjadi karena estrogen reseptor tidak dapat menangkap estrogen yang sudah tidak diproduksi oleh tubuh sehingga akan mengalami penurunan jumlah estrogen reseptor teraktivasi yang ada pada sel tulang (Humaryanto, 2017). Estrogen reseptor yang ada di sel tulang adalah ER α dan ER β (Humaryanto, 2017). Peran ER α dan ER β pada tulang khususnya dalam sel osteoblas menunjukkan efek yang sinergis dalam proses *remodeling* tulang (Khalid and Krum, 2016). Proses *remodeling* tulang yang seimbang ditandai dengan proses resorpsi yang diperankan osteoklas dan pembentukan tulang yang diperankan osteoblas dapat terjadi secara seimbang. Keseimbangan ini dapat dipengaruhi oleh adanya hormon estrogen dalam tubuh.

Sehingga ketika seorang wanita mengalami defisiensi estrogen rentan terkena osteoporosis, kejadian ini dapat dicegah dengan fitoestrogen yang memiliki peran mirip dengan estrogen di dalam tubuh (Humaryanto, 2017; *National Osteoporosis Foundation*, 2010). Dari penelitian *in silico* ini dapat diprediksi

bahwa ekstrak etanol 96% daun *C. cainito* dapat dijadikan sebagai terapi alternatif dalam mencegah terjadinya defisiensi estrogen pada wanita pascamenopause yang mengalami osteoporosis.

5.5. Manfaat Tanaman dalam Perspektif Islam

Tumbuhan merupakan anugerah khusus yang Allah SWT berikan kepada manusia. Beberapa kali di dalam Alqur'an menyebutkan peran tumbuhan sebagai makanan dan obat manusia. Manusia mendapatkan banyak manfaat dari tumbuhan, mulai dari daun, buah, bunga, dan lainnya. Keberadaan berbagai macam tumbuhan bumi ini merupakan tanda kekuasaan dan nikmat dan yang diberikan oleh Allah SWT. Hal ini dijelaskan dalam Alqur'an Surah Al-Baqoroh (02) ayat 22 yang berbunyi:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ فِرَاشًا وَالسَّمَاءَ بِنَاءً وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجَ بِهِ مِنَ الثَّمَرَاتِ رِزْقًا لَّكُمْ فَلَا تَجْعَلُوا
لِلَّهِ أَنْدَادًا وَأَنْتُمْ تَعْلَمُونَ

Artinya : *(Dialah) yang menjadikan bumi sebagai hamparan bagimu dan langit sebagai atap, dan Dialah menurunkan air (hujan) dari langit, lalu Dia hasilkan dengan hujan itu segala buah-buahan sebagai rezeki untukmu. Karena itu janganlah kamu mengadakan tandingan-tandingan bagi Allah, padahal kamu mengetahui (QS. Al-Baqoroh : 22).*

Ayat diatas menjelaskan bahwa Allah mempersiapkan bumi yang membentang luas permukaannya agar mudah untuk ditempati dan didayagunakan oleh makhluk hidup. Allah juga memberikan nikmat dan sumber kehidupan yaitu air yang menjadikan sebab tumbuhnya tanaman dan pepohonan yang berbuah untuk diambil manfaatnya. Manfaat tumbuhan salah satunya dapat dijadikan sebagai obat-obatan untuk makhluk hidup (Shihab, 2002). Kebenaran tentang firman Allah SWT

dapat dibuktikan pada penelitian ini terdapat senyawa fitoestrogen yang diprediksi memiliki aktivitas antiosteoporosis yang terdapat pada ekstrak etanol 96% daun *C. Cainito*.

Manfaat tumbuhan sebagai obat-obatan salah satunya dapat digunakan sebagai obat antiosteoporosis. Sejatinya segala penyakit datangnya dari Allah, sehingga Allah yang bisa menyembuhkan berbagai macam penyakit. Akan tetapi kita sebagai manusia harus berusaha untuk menyembuhkan penyakit dengan cara melakukan pengobatan. Karena Allah menurunkan penyakit pasti dengan obatnya. Hal ini sesuai dengan hadits riwayat Abu Daud yang berbunyi :

حَدَّثَنَا مُحَمَّدُ بْنُ عُبَادَةَ الْوَاسِطِيُّ حَدَّثَنَا يَزِيدُ بْنُ هَارُونَ أَخْبَرَنَا إِسْمَاعِيلُ بْنُ عَيَّاشٍ عَنْ ثَعْلَبَةَ بْنِ مُسْلِمٍ عَنْ أَبِي عِمْرَانَ الْأَنْصَارِيِّ عَنْ أُمِّ الدَّرْدَاءِ عَنْ أَبِي الدَّرْدَاءِ قَالَ قَالَ رَسُولُ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ إِنَّ اللَّهَ أَنْزَلَ الدَّاءَ وَالِدَوَاءَ وَجَعَلَ لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءً فَتَدَاوُوا وَلَا تَدَاوُوا بِحَرَامٍ (رواه أبو داود بإسناد صحيح)

Artinya ; *Telah menceritakan kepada kami Muhammad bin 'Ubadah Al Wasithi telah menceritakan kepada kami Yazid bin Harun telah mengabarkan kepada kami Isma'il bin 'Ayyasy dari Tsa'labah bin Muslim dari Abu Imran Al Anshari dari Ummu Ad Darda dari Abu Ad Darda ia berkata, "Rasulullah shallallahu 'alaihi wasallam bersabda: "Sesungguhnya Allah telah menurunkan penyakit dan obat, dan menjadikan bagi setiap penyakit terdapat obatnya, maka berobatlah dan jangan berobat dengan sesuatu yang haram!"* (HR. Abu Dawud).

Arti *tadawa* dalam hadits diatas yaitu menggunakan obat, diambil dari akar kata *dawa*. Obat adalah segala yang digunakan oleh manusia untuk menghilangkan penyakit yang diderita. Hadits tersebut menunjukkan bahwa seorang muslim boleh mengobati penyakitnya. Sebab Allah menurunkan penyakit disertai dengan diturunkan obatnya. Hal ini menunjukkan bahwa seorang muslim harus berusaha mengobati penyakit yang dideritanya (Utsman, 2005). Salah satu pengobatannya dapat menggunakan tumbuhan sebagai obat.

Khasiat tumbuhan sebagai obat dapat dibuktikan dengan adanya penelitian-penelitian yang dapat dijadikan sebagai acuan. Termasuk dari tanda-tanda kekuasaan Allah adalah segala sesuatu yang terjadi di langit dan di bumi. Maka dari itu manusia yang diberi anugrah akal oleh Allah wajib memikirkan tanda-tanda kekuasaan Allah yang terjadi di langit dan di bumi. Salah satu bentuk memikirkan tanda-tanda kekuasaan Allah yang ada di bumi adalah melakukan penelitian untuk mengembangkan dan memanfaatkan tanaman sebagai obat. Hal ini dijelaskan dalam Alqur'an surah Yunus ayat 101, yang berbunyi :

قُلْ انظُرُوا مَاذَا فِي السَّمٰوٰتِ وَالْاَرْضِ يَوْمَ تُعٰنِي الْاٰيٰتُ وَالنُّذُرُ عَنْ قَوْمٍ لَا يُؤْمِنُوْنَ

Artinya: *Katakanlah, “Perhatikanlah apa yang ada di langit dan di bumi!” Tidaklah bermanfaat tanda-tanda (kebesaran Allah) dan rasul-rasul yang memberi peringatan bagi orang yang tidak beriman (QS. Yunus: 101).*

Ayat ini menjelaskan perintah Allah untuk memperhatikan dengan mata kepala dan akal segala kejadian di langit dan di bumi. Manusia diperintahkan agar merenungkan kebesaran Allah, salah satunya adalah air hujan yang turun ke bumi, menghidupkan bumi yang mati, dan menumbuhkan tanam-tanaman dan pohon-pohonan dengan buah-buahan yang beraneka warna rasanya, memberi manfaat yang tidak sedikit bagi manusia. Hal itu merupakan tanda-tanda kekuasaan Allah, bagi orang yang mau berfikir (Kemenag, 2021). Hal ini merupakan kewajiban manusia untuk memikirkan tanda-tanda kekuasaan Allah. Salah satu yang dapat dilakukan oleh manusia untuk memikirkan tanda-tanda kekuasaan Allah adalah melakukan penelitian yang hasilnya dapat dimanfaatkan oleh manusia. Penelitian yang dapat dilakukan adalah uji *in silico* untuk mengetahui khasiat obat dari suatu tumbuhan.

BAB VI

PENUTUP

6.1. Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian mengenai Prediksi Senyawa Fitoestrogen yang Berpotensi sebagai Antiosteoporosis pada Ekstrak Etanol 96% Daun *C. cainito* terhadap *Estrogen Receptor α* (1A52) dan *β* (3OLS) Secara *In Silico* sebagai berikut :

1. Terdapat 6 senyawa dari ekstrak *etanol 96%* daun *C. cainito* yang diprediksi agonis terhadap ER α , yaitu senyawa 11-Aminoundecanoic acid; 4-Amino-5-chloro-N-[2-(diethylamino)ethyl]-2-[2-(methylsulfonyl)ethoxy]benzamide; Lauryldiethanolamine; N-[(2-Isopropoxyethyl)sulfonyl]glycyl-O,2-dimethylserine; Safingol; 2,2'-(Hexadecylimino)diethanol.
2. Terdapat 7 senyawa dari ekstrak *etanol 96%* daun *C. cainito* yang diprediksi agonis terhadap ER β , yaitu senyawa 11-Aminoundecanoic acid; Megalanthonine; Cetylamine; N-[4-Ethoxy-3-(1-pyrrolidinylsulfonyl)phenyl]-2-[4-(2-pyrimidinyl)-1-piperazinyl]acetamide; Lauryldiethanolamine; N-[(2-Isopropoxyethyl)sulfonyl]glycyl-O,2-dimethylserine; Safingol.

6.2. Saran

Perlu dilanjutkan penelitian lebih lanjut yaitu uji *in vitro* agar dapat dikembangkan sebagai obat herbal dari ekstrak etanol 96% daun *C.cainito*.

DAFTAR PUSTAKA

- Accelrys Enterprise Platform. 2005. *Introduction to the Discovery Studio Visualizer*. San Diego, California, U. S. A: Accelrys Software Inc.
- Achdiat, C.M. 2003. *Fitoestrogen Untuk Wanita Menopause*. <http://www.situs.kesrepro.info/aging/jul/2003/ag01.html> (Diakses pada tanggal 11 Maret, 2015).
- Adelina, Rosa. 2014. Uji Molecular Docking Annomuricin E dan Muricapentocin pada Aktivitas Antiproliferasi. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. Volume 12, Nomor 1: 32-36.
- Allredge, B.K., Corelli, R.L., Ernst, M.E., Guglielmo, B.J., Jacobson, P.A., Kradjan, W.A., Williams, B.R. 2013. *Applied Therapeutics*. PA : Lippincot Williams Dan Wilkins.
- Amiruddin, Reyhan. 2018. Metabolite Profiling Berbagai Ekstrak Daun *Chrysophyllum cainito* L. Menggunakan UPLC-QTOF-MS/MS. *Skripsi*. Malang: Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Ariyanti, H dan Apriliana, E. 2016. Pengaruh Fitoestrogen terhadap Gejala Menopause. *Majority*. Volume 5. Nomor 5.
- Agustina, W., Susanti, E., Yunita, P. N., Yamtinah, S. 2018. *Modul Chemoffice*. Surakarta: Program Studi Pendidikan Kimia Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Asbar A. and Mawarpury M., 2018. Hidup Berkualitas: (Studi Kasus Pada Perempuan Menopause). *Marwah: Jurnal Perempuan, Agama dan Jender*. Vol. 17, No. 1,
- Al-Mahalli, Imam Jalaludin and Imam Jalaluddin as-Suyuti. 2010. *Tafsir Jalalain*. Bandung : Sinar Baru Algensindo.
- Arwansyah, A., Ambarsari, L., Sumaryada, T. I. 2014. Simulasi *Docking* Senyawa Kurkumin dan Analognya Sebagai Inhibitor Reseptor Androgen pada Kanker Prostat. *Current. Biochem*. 1 (1): 11-19.
- Beral V., 2003. Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *Article The Lancet*
- Bulun SE, Adashi EY. 2012. *The physiology and pathology of the female reproductive axis*, In: Larsen PR, Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS

(eds) *Williams Textbook of Endocrinology. 12th edition.* Philadelphia: Saunders

- Chagas, C.M., Moss, S. and Alisaraiea, L., 2018. Drug Metabolites and Their Effects on The Development of Adverse Reactions: Revisiting Lipinski's Rule of Five. *International Journal of Pharmaceutics*. Volume 549: pp.133–149
- Cosman, F. 2009. *Osteoporosis: Panduan Lengkap agar Tulang Anda Tetap Sehat.* Solo: Bintang Pustaka.
- Cos, P., Bruyne, T. D., Apers, S., Berghe, D. V., Pieters, L., and Vlietinck, A. J. 2003. A Review : Phytoestrogen Recent Developments.
- Cousins, Kimberley. 2011. Computer Review of ChemDraw Ultra 12.0. *Journal of the American Chemical Society*. Volume 133: 8388
- Cui, J., Shen, Y, Li, R. 2013. Estrogen Synthesis and Signaling Pathways durin Ageing: From Periphery to Brain. *Trends Mol Med*. 19(3).
- Das, A., Badaruddin, B.N., Bhaumik, A. 2010. A Brief Review on Chrysophyllum cainito. *Journal of Pharmacognosy and Herbal Formulations*. Volume 1: 1-7.
- Daina, A., Michielin, O., Zoete, V. 2017 SwissADME: A Free Web Tool to Evaluate Pharmacokinetics, Druglikeness and Medicinal Chemistry Friedliness of Small Molecules. *Scientific Reports*. Vol 7 (42717).
- de Villiers, T. J. 2009. *Bone health and osteoporosis in postmenopausal women.* Elsevier : *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*. Volume 23: 73-85.
- Dipiro, J. T., Robert, L. T., Gary, C. Y., Barbara G. W. L., Michael, L. 2008. *Pharmacotherapy (A Pathophysiologic Approach), 7th Edition.* United Stated : McGraw-Hill Companies, Inc
- Dwek, A. C. 2006. Isoflavones, Phytohormones and Phytosterols. 2006. *J. Appl. Cosmetol*. Volume 24: 17-32.
- Ekins, S., Mestres, J., Testa, B. 2007. *In silico* Pharmacology for Drug Discovery: Applications to Targets and Beyond. *British Journal Pharmacology*. 152, 21-37.
- Erickson, ME., Ngongang, M., and Rasulev, B. 2020. A Refractive Index Study of a Diverse Set of Polymeric Materials by QSPR with Quantum-Chemical and Additive Descriptors. *Molecules*. Volume 25.

- Ghatol, SP., Verma, S., Agarwal, K., and Sharon, A. 2010. Pharmacophore distance mapping and docking study of some benzimidazole analogs as A2A receptor antagonists. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*. Volume 2. Nomor 1. pp.71-77.
- Giordanetto, F., Tyrchan, C., Ulander, J. 2017. Intramolecular Hydrogen Bond Expectations in Medicinal Chemistry. *ACS Medicinal Chemistry Letters*. Volume 8: 139-142.
- Guido G., Scaglione, M., Fabbri, L., Ceglia, M. J. 2009. The “osteoporosis disease”. *Clinical Cases in Mineral and Bone Metabolism*. Vol. 6(2):114-6.
- Harish B.M., Devaraju K.S., Gopi A., Saraswathi R., Anushree., Babu R.L., and Sharma S.C. 2013. In silico binding affinity study of calcineurin inhibitors to calcineurin and its close associates. *Indian Journal of Biotechnology*. Volume 12. pp.213-217.
- Hanwel, M, D., Donald E Curtis, D. E., David C Lonie, D. C., Vandermeersch, T., Eva Zurek, E and Hutchison, G. R. 2012. Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. *Journal of Cheminformatics*. Vol 4 (7).
- Hardjono, S. 2013. Sintesis dan Uji Aktivitas Antikanker Senyawa 1-(2-klorobenzoiloksi)urea dan 1-(4- klorobenzoiloksi)urea. *Berkala Ilmia Kimia Farmasi*. 2 (1).
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid III*, diterjemahkan oleh Badan Litbang Kehutanan Jakarta. 1558.
- Hidayat A. dan Ningsih I. Y. 2015. *Pengembangan Ekstrak Daun dan Buah Kenitu (Chrysophyllum cainito L.) untuk Obat Herbal Terstandar Diabetes Mellitus*. Jember: Universitas Negeri Jember
- Hinchliffe, A. *Molecular Modelling for Beginners*. Oxford: John Willey&Sons Ltd.
- Humaryanto. 2017. Deteksi Dini Osteoporosis Pasca Menopause. *JMJ*. Volume 5, Nomor 2
- Indrayanti, Putu M. 2016. Kadar Serum Receptor Activator Of Nuclear Factor Kappa B Ligand (RANKL) dan Rasio RANKL/Osteoprotegerin (OPG) yang Tinggi Berhubungan dengan Osteoarthritis Genu Grade III Dan IV pada Wanita Pasca Menopause [Tesis]. Denpasar : Universitas Udayana.
- Jantarantnotai A,N., Utaisincharoen B,P., Sanvarinda A,P., Thampithak C,A., Sanvarinda, Y. 2013. Phytoestrogens Mediated Anti-Inflammatory Effect

- Through Suppression Of IRF-1 and PSTAT 1 Expressions in Lipopolysaccharide-Activated Microglia. *International Immunopharmacology* 17 : 483–488.
- Johan, A. K. 2016. Uji *In Silico* Senyawa Genistein sebagai Ligan pada Reseptor Estrogen Beta. *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Sanata Dharma.
- Ji, M.X., dan Yu, Q. 2015. Primary Osteoporosis in Postmenopausal Women. *Chronic Diseases And Translational Medicine*. Vol. 1-13.
- Kastritis, P. L., and Bonvin, A. M. J. J. 2013. On The Binding Affinity Of Macromolecular Interactions: Daring To Ask Why Proteins Interact. *Journal of The Royal Society*. Voume 10: 1-27
- Kelder, J., Grootenhuis, P. D. J., Bayada, D. M., Delbressine, L. P. C., Ploemen, J.P. 1999. Polar Molecular Surface as a Dominating Determinant for Oral Absorption and Brain Penetration of Drugs. *Pharmaceutical Research*. Volume 16, Nomor 10: 1514-1519.
- Kementrian Agama Republik Indonesia. *Al-qur'an dan Terjemahnya*. Jakarta : Adhi Aksara Abadi Indonesia.
- Khalid, AB., and Krum, SA. 2016. Estrogen Receptors Alpha and Beta In Bone. *Bone*. Volume 87: 130-135.
- Kholilurrohman. 2018. Hajinya Lansia Ditinjau dari Perspektif Bimbingan dan Konseling Islam. *Al-Balagh*. Vol. 2, No. 2
- Kitchen, Douglas., B, Helene Decornez, Jhon R. Furr dan Jurgen Bajorath. 2004. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: Methods and application. *Nature Reviews. Drug Discovery*. Volume 3: 935-949
- Koffi, N., Amoikon, K. E., Tiebre, M. S., Kadja, B., Zirihi, G. N. 2009. Effect of Aqueous Extract of *Chrysophyllum cainito* Leaves on The Glycaemia of Diabetic Rabbits. *African Journal Pharmacy and Pharmacology*. Volume 3: 501-506.
- Koffi, N'guessan. 2008. Plantes medicinales et pratiques medicales traditionnelles chez les peuples Abbey et Krobou du Department d'Agboville (Cote-d'Ivoire). *[Thesis]*. Cote-d'Ivoire: Universite de Cocody-Abidjan.
- Lee, W-L., Tsui, K-H., Seow, K-M., Cheng, M-H., Su, W-H., Chen, C-P., Wang, P-H. 2013. Hormone therapy for postmenopausal women And unanswered issue. Elsevier : *Gynecology and Minimally Invasive Therapy*. Vol 2.

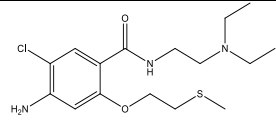
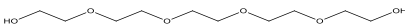
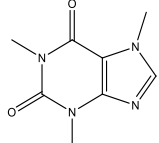
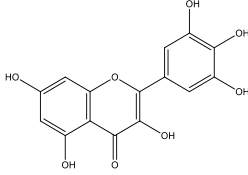
- Lipinski, CA., Lombardo, F., Dominy, BW., Feeney, PJ. 2001, Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery and Development Settings, *Adv. Drug Deliv. Rev.* Volume 46, Nomor 1–3: 3–26
- Luo, X. D., Basile, M. J., and Kennely, E. J. 2002 Polyphenolic Antioxidants from *Chrysophyllum cainito* L. (Star Apple). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Volume 50: 1379-1382.
- Ma'arif, B and Aditama, A.P. 2019. Activity of 96% Ethanol Extract Of *Chrysophyllum cainito* L. in Increasing Vertebrae Trabecular Osteoblast Cell Number in Male Mice. *Asian J Pharm Clin Res*. Volume 12, Issue 1.
- Ma'arif, B., Agil, M., dan Laswati, H. 2018. Alkaline Phosphatase Activity of *Marsilea crenata* Presl. Extract and Fractions as Marker of MC3T3-E1 Osteoblast Cell Differentiation. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. Vol 8 (3).
- Martin, Y. C. 2005. A Bioavailability Score. *Journal of Medicinal Chemistry*. Vol. 48 (9)
- Michel, T., Halabalaki, M., Skaltsounis, A.L., 2013. New concepts, experimental approaches, and dereplication strategies for the discovery of novel phytoestrogens from natural sources. *Planta Med.* 79, 514–532.
- Morton, J. 1987. Star Apple Fruits of Warm Climates. *Miami Florida*. 408-410.
- Muchtaridi, M., Dermawan, D., Yusuf, M. 2018. Molecular Docking, 3D Structure-Based Pharmacophore Modeling, and ADME Prediction of Alpha Mangostin and Its Derivatives against Estrogen Receptor Alpha. *Journal of Young Pharmacists*, Vol 10 (3).
- Mukhriani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*. Vol. VII (2).
- Mukesh, B. dan Kumar, R. 2011. Molecular Docking: a Review. *International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy*, 2 (6): 1746-1751.
- Muttaqin, F. Z., Pratama, M. F. and Kurniawan, F. 2019. Molecular Docking and Molecular Dynamic Studies of Stilbene Derivative Compounds as Sirtuin-3 (Sirt3) Histone Deacetylase Inhibitor on Melanoma Skin Cancer and Their Toxicities Prediction. *Journal of Pharmacopolium*. Vol. 2 (2): 112-121.
- National Osteoporosis Foundation. 2010. *Clinician's Guide to Prevention and Treatment of Osteoporosis*. Washington, DC: National Osteoporosis Foundation.

- Noviardi, H., dan Fachrurrazie. 2015. Potensi Senyawa Bullatalisin sebagai Inhibitor Protein Leukotrien A4 Hidrolase pada Kanker Kolon secara *In Silico*. *Fitofarmaka*. Volume 5. Nomor 2.
- Onkara, P., Kumar, A. S., Kanakaraju, B., Prasanna, B., Pydisetty, Y., Chandramouli, G. V. P. 2013. Molecular Docking Studies, Synthesis and Anti-Bacterial Properties of New Mannich Bases. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 4(2): 263 – 270.
- Orwa, C., Mutua, A., Kindt, R., Jamnadass, R., & Simons, A. 2009. Agroforestry Database: A Tree Reference and Selection Guide Version 4.0.1 [Online]. <http://www.worldagroforestry.org/af/treedb/>.
- Orwoll ES, Bliziotes M. 2002. *Osteoporosis: Pathophysiology and Clinical Management*. Humana Press.
- Ososki, A. L. and Kennelly, E. J. 2003. Phytoestrogens; a Review of the Present State of Research. *Phytotherapy research*.
- Rachmania, R.A., Hariyanti., Zikriah, R., Soultan, A. 2018. Studi *In Silico* Senyawa Alkaloid Herba Bakung Putih (*Crinum asiaticum* L.) pada Penghambatan Enzim Siklooksigenase (COX). *Jurnal Kimia VALENSI: Jurnal Penelitian dan Pengembangan Ilmu Kimia*. Volume 4, Nomor 2.
- Ramadani, M. 2010. Faktor-faktor resiko osteoporosis dan upaya pencegahannya. *Jurnal kesehatan masyarakat*, hlm 1-3.
- Rettberg, J. R., Yao, J., Brinton, R. D. 2013. Estrogen: A master regulator of bioenergetic systems in the brain and body. *Frontiers in Neuroendocrinology*. 35: 8-30.
- Riaz, N., Shahbaz, A.Kalssom, S. 2018. Ligand Based Pharmacophore Model Development for the Identification of Novel Anti-Psychotic Drugs. *International Journal of Applied Science - Research and Review*. Volume 5, Nomor 2: 1-10.
- Sakti A, Alwi I, Muhadi, dan Shatri H. 2019. Karakteristik Mortalitas Jamaah Haji Indonesia Akibat Penyakit Kardiovaskular. *Jurnal Penyakit Dalam Indonesia*. Vol. 6, No. 4.
- Setiyohadi, B. 2006. *Osteoporosis. Dalam: Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*, Jilid II, Edisi IV, Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 1259-73.

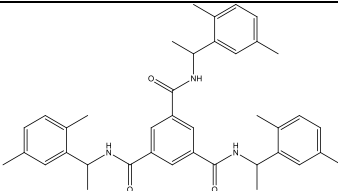
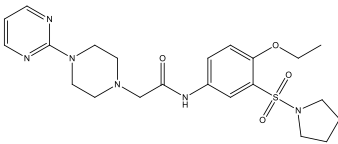
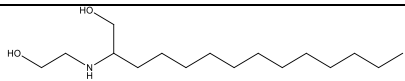
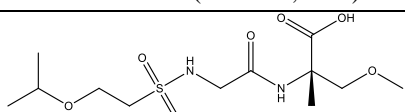
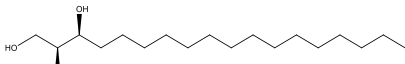
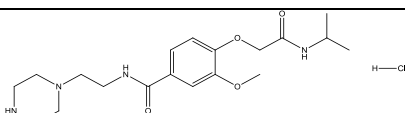
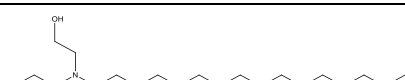
- Shailajan, S., and Gurjar, D. 2014. Pharmacognostic and Phytochemical Evaluation of *Chrysophyllum cainito* Linn. Leaves. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. Volume 26: 106-111.
- Sirotkin, A.V., Harrath, A.H. 2014. Phytoestrogen And Their Effects. *European Journal Of Pharmacology* 741 : 230–236.
- Siswandono dan Soekardjo, B. 2000. *Kimia Medisinal, Edisi 2*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Siswandono dan Soekardjo, B. 1995. *Kimia Medisinal*. Surabaya: University of Airlangga Press.
- Sitasiwi, Agung Janika. 2009. Efek Paparan Tepung Kedelai dan Tepung Tempe sebagai Sumber Fitoestrogen terhadap Jumlah Kelenjar Endometrium Uterus Mencit (*Mus musculus L.*). Semarang : Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Hewan Jurusan Biologi FMIPA UNDIP.
- Sliwoski, G., Kothiwale, S., Meiler, J., Lowe, E. W. Jr. 2014. Computational Methods in Drug Discovery. *Pharmacol Rev.* 66:334–395.
- Speroff, L., and Fritz M. A. 2005. Menopause and the Perimenopausal Transition. New York : Lippincott Williams & Wilkins.
- Shihab, M. Quraish. 2002. *Tafsir al-Misbah*. Jakarta: Lentera Hati.
- Suharna. 2012. Studi In Silico Senyawa Turunan Flavonoid terhadap Penghambatan Enzim Tirosinase. *Skripsi*. Makassar: UIN Alauddin.
- Szulc P, Bouxsein M.L. 2002. Overview of Osteoporosis. Epidemiology and Clinical Management. Vertebral Fracture Initiative Resource Document.
- Trott, O dan Olson, A. J. 2009. Software News and Update Autodock Vina: Improving the Speed and Accuracy of Docking with a New Scoring Function, Efficient Optimization and Multithreading. *Journal of Computational Chemistry*. Vol. 31 (2).
- Thurston RC, Joffe H. 2011. Vasomotor Symptoms and Menopause: Findings from the Study of Women’s Health Across the Nation. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 38(3); 489–501.
- Utsman Syabir. 2005. *Pengobatan Alternatif Dalam Islam*. Jakarta: Grafindo.
- [USDA] United States Department of Agriculture. 2004. *Chrysophyllum cainito L.* (<http://www.plants.usda.gov/core/profile?symbol=CHCA10>) National Plant Data Center. Baton Rouge. LA 70874-4490 USA.

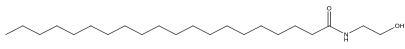
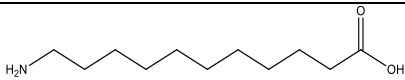
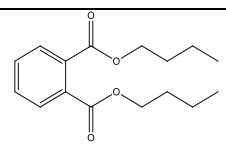
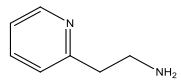
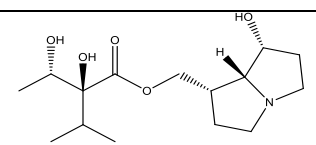
- Vasavi, CS., Goyal, A., Divya, G., and Munusami, P. 2015. In silico analysis of interactions in heme binding proteins. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. Volume 7, Nomor 1.
- Vrtacnik, P., Ostanek, B., Mencej-Bedrač, S., Marc, J. 2014. The Many Faces of Estrogen Signaling. *Biochemica Medica*. Vol. 24 (3).
- Villa, A., Vegeto, E., Poletti, A., Maggi, A. 2016 Estrogens, Neuroinflammation and Neurogeneration. *Endocrine Society*.
- Wadood, A., Ahmed, N., Shah, L., Ahmad, A., Hassan, H., Shams, S. 2013. In Silico Drug Design: An Approach Which Revolutionarised the Drug Discovery Process. *OA Drug Design and Delivery*. 1 (1).
- Waters, K.M., Rickard, D.J., Gebhart, J.B. 1999. Potential Roles of Estrogen Reseptor α and β in the Regulation of Human Osteoblast Functions and Gene Expression. The menopause at the millenium. *The Proceeding of the 9th International Menopause Society World Congress on Menopause*. October 17-21; Yokohama, Japan.
- Wermuth, C. G. 2008. *The Practice of Medicinal Chemistry*. United States: Academic Press.
- Witanto, S., Ratnawati, DE., dan Anam, S. 2019. Pengelompokan Fungsi Aktif Senyawa Data SMILES (Simplified Molecular Input Line Entry System) Menggunakan Metode K-Means Dengan Inisialisasi Pusat Klaster Menggunakan Metode Heuristic O (N LogN). *Jurnal Pengembangan Teknologi Informasi dan Ilmu Komputer*. Volume 3. Nomor 1. Hlm 702-707
- Yang, T-S., Wang, S-Y., Yang, Y-C., Su, C-H., Lee, F-K., Chen, S-C., Tseng, C-Y., Jou, H-J., Huang, J-P., Huang, K-E. 2012. Effects of standardized phytoestrogen on Taiwanese menopausal women. Elsevier : *Taiwanese Journal of Obstetrics & Gynecology*. Vol 51.
- Yildiz, Fatih. 2006. *Phytoestrogens In Functional Foods*. New York: Taylor & Francis Group.
- Yusri, Zulkarnain, dan Sitorus RJ. 2020. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Kebugaran Jasmani Calon Jemaah Haji Kota Palembang Tahun 2019. *Jurnal Epidemiologi Kesehatan Komunitas*. Volume 5, Nomor 1.
- Zulaikhah, S. 2015. Uji Aktivitas Antioksidan, Polifenol, dan Flavonoid Ekstrak Air, Aseton, Etanol Beberapa Varian Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) dari Daerah Jember [Tesis]. Jember: Universitas Jember.

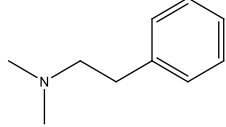
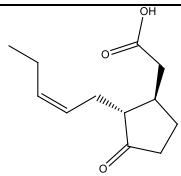
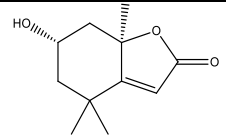
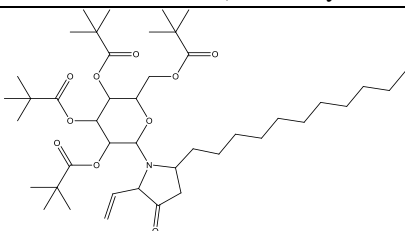
Lampiran 1. Interpretasi hasil kandungan senyawa ekstrak etanol 96% daun *C. cainito* dengan UPLC-MS

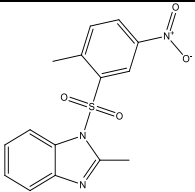
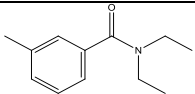

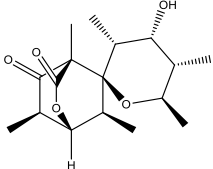
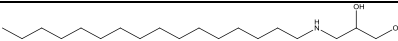
Preparasi Metanol					
NO	% Area	Rumus Molekul	Nama Senyawa	Golongan	Struktur dan Aktivitas
1	0,5829%	C ₁₆ H ₂₆ N ₃ O ₂ SCl	4-Amino-5-chloro-N-[2-(diethylamino)ethyl]-2-[2-(methylsulfonyl)ethoxy]benzamide.	Amida	
2	0,0996%	-	UNKNOWN	-	-
3	0,1101%	C ₁₀ H ₂₂ O ₆	“Pentaethylene glycol” 3,6,9,12-Tetraoxatetradecane-1,14-diol.	Alkohol	
4	0,5183%	C ₁₂ H ₂₉ NO ₇	UNKNOWN	-	-
5	3,0941%	C ₈ H ₁₀ N ₄ O ₂	“Caffeine” 1,3,7-Trimethyl-3,7-dihydro-1H-purine-2,6-dione.	Alkaloid purin	 Neurodegeneratif (Akomolafe,2017) meningkatkan produksi estradiol pada ovarian (Kwak,2017)
6	2,6907%	C ₁₆ H ₂₉ N ₁₅	UNKNOWN	-	-
7	7,2157%	C ₁₅ H ₁₀ O ₈	“Myricetin” 3,5,7-Trihydroxy-2-(3,4,5-trihydroxyphenyl)-4H-chromen-4-one.	Flavonoid	 Estrogenik (Hong,2014) dan Renoprotektif (Kandasamy, 2014)

8	0,7804%	C ₃₇ H ₄₅ N ₃ O ₂	(4E)-N-[2,4-Bis(2-methyl-2-butanyl)phenyl]-4- {[4-(diethylamino)phenyl]imino}-1-oxo-1,4- dihydro-2-naphthalenecarboxamide.	Amida	
9	0,9429%	C ₁₇ H ₂₆ N ₂ O ₈	1-(2,5-Dioxo-1-pyrrolidinyl) 4-(2-methyl-2- propanyl) N-[(2-methyl-2- propanyl)oxy]carbonyl]-L-aspartate.	Asam Amino	
10	0,6842%	C ₃₃ H ₃₃ N ₃	4-[(E)-[(1,7-Diphenyl-2,3,6,7-tetrahydro- 1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinolin-9- yl)imino]methyl]-N,N-dimethylaniline.	Anilin	
11	1,0304%	C ₂₇ H ₄₁ N ₅ O ₃ S	1-[(6,7-Dimethyl-2-oxo-1,2-dihydro-3- quinolinyl)methyl]-1,3-bis[3-(4- morpholinyl)propyl]thiourea.	Amida	
12	1,0018%	C ₂₂ H ₃₇ N ₁₅ O ₃	UNKNOWN	-	-

13	1,4508%	C ₃₉ H ₄₅ N ₃ O ₃	N,N',N''-Tris[1-(2,5-dimethylphenyl)ethyl]-1,3,5-benzenetricarboxamide.	Amida	
14	4,5071%	C ₂₂ H ₃₀ N ₆ O ₄ S	N-[4-Ethoxy-3-(1-pyrrolidinylsulfonyl)phenyl]-2-[4-(2-pyrimidinyl)-1-piperazinyl]acetamide.	Alkaloid	
15	2,5179%	-	UNKNOWN	-	-
16	25,1743%	C ₁₆ H ₃₅ NO ₂	“Lauryldiethanolamine” 2-[(2-Hydroxyethyl)amino]-1-tetradecanol.	Alkohol	 Antimikroba (Lambert,1977)
17	1,8054%	C ₁₂ H ₂₄ N ₂ O ₇ S	N-[(2-Isopropoxyethyl)sulfonyl]glycyl-O,2-dimethylserine.	Asam amino	
18	8,3917%	C ₁₈ H ₃₉ NO ₂	“Safingol” (2S,3S)-2-Amino-1,3-octadecanediol.	Sphingolipid	 Anticancer (Dickson,2011)
19	33,3049%	C ₁₉ H ₃₁ N ₄ O ₄ Cl	4-[2-(Isopropylamino)-2-oxoethoxy]-3-methoxy-N-[2-(1-piperazinyl)ethyl]benzamide hydrochloride.	Amida	
20	3,5020%	C ₂₀ H ₄₃ NO ₂	2,2'-(Hexadecylimino)diethanol.	Alkohol	

21	0,5948%	C ₂₂ H ₄₅ NO ₂	N-(2-Hydroxyethyl)icosanamide.	Amida	
Preparasi Diklorometan					
NO	% Area	Rumus Molekul	Nama Senyawa	Golongan	Struktur dan Aktivitas
1	4,1525%	C ₁₁ H ₂₃ NO ₂	11-Aminoundecanoic acid.	Asam amino	
2	0,1978%	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	Dibutyl phthalate.	Ester	 Antibakteri (Khatiwora 2012), glikosidase inhibitor (Lee 2000), estrogenik (Harris 1997)
3	6,3960%	C ₇ H ₁₀ N ₂	2-(2-Pyridinyl)ethanamine.	Amina	
4	0,4560%	C ₁₅ H ₂₇ NO ₅	“Megalanthonine” [(1S,7R,7aR)-7-Hydroxyhexahydro-1H-pyrrolizin-1-yl]methyl (2S,3S)-2,3-dihydroxy-2-isopropylbutanoate.	Alkaloid pirolizidin	 Anti jamur (Reina 1998)
5	0,2423%	C ₁₂ H ₂₉ NO ₇	UNKNOWN	-	-
6	1,1702%	C ₁₁ H ₂₅ N ₁₁ O ₂	UNKNOWN	-	-

7	3,3256%	C ₁₀ H ₁₅ N	N,N-Dimethylphenethylamine.	Turunan Alkaloid	 <p>TAAR1 agonis pada manusia (Wainscott, 2007)</p>
8	1,6608%	C ₁₂ H ₁₈ O ₃	“Jasmonic acid” {(1R,2R)-3-Oxo-2-[(2Z)-2-penten-1-yl]cyclopentyl}acetic acid.	Asam organik	 <p>Antimalaria (Zhai,2014)</p>
9	0,1919%	C ₂₆ H ₅₇ NO ₁₄	UNKNOWN	-	-
10	1,6855%	C ₁₁ H ₁₆ O ₃	“Loliolide” (6S,7aR)-6-Hydroxy-4,4,7a-trimethyl-5,6,7,7a-tetrahydro-1-benzofuran-2(4H)-one.	Mono-terpenoid	 <p>Antioksidan (Yang,2011), antipiretik, anti-inflamasi, vasodilator (Grabarczyk, 2015)</p>
11	3,0011%	C ₄₃ H ₇₃ NO ₁₀	1-[2,3,4,6-Tetrakis-O-(2,2-dimethylpropanoyl)hexopyranosyl]-5-undecyl-2-vinyl-3-pyrrolidinone.	Amina	

12	34,9810%	C ₁₅ H ₁₃ N ₃ O ₄ S	“BI6015” 2-Methyl-1-[(2-methyl-5-nitrophenyl)sulfonyl]- 1H-benzimidazole.	Amida	
13	0,2265%	-	UNKNOWN	-	-
14	8,1775%	C ₁₂ H ₁₇ NO	“Diethyltoluamide” N,N-Diethyl-3-methylbenzamide.	Amida	 Pengusir serangga (Ditzen, 2008)
15	15,2609%	C ₁₆ H ₃₅ N	“Cetylamine” 1-Hexadecanamine.	Amina	 Anti bakteri, ajuvan untuk difteri, tetanus toxoid, dan influenza (Attwood 2012)
16	5,8381%	-	UNKNOWN	-	-
17	1,5154%	C ₁₇ H ₂₆ O ₅	“Portentol” (1S,2S,3S,3'R,4R,4'R,5'S,6'R,8R)-4'-Hydroxy- 1,3,3',5',6',8-hexamethyltetrahydro-6H,7H- spiro[5-oxabicyclo[2.2.2]octane-2,2'-pyran]- 6,7-dione.	Poliketida	 Anti Kanker (Schröckeneder, 2012)
18	4,2821%	C ₁₉ H ₄₁ NO ₂	3-(Hexadecylamino)-1,2-propanediol.	Alkohol	
19	5,5344%	-	UNKNOWN	-	-
20	1,7043%	-	UNKNOWN	-	-

Lampiran 2. Tabel Hasil *Molecular Docking* 29 Senyawa terhadap Protein 1A52

No	Nama Senyawa	<i>Binding Affinity</i> (kkal/mol)	<i>Rmsd Average</i> (Å)	Interaksi	Asam amino (Jenis Ikatan)	Jarak Farmokofor (Å)
<i>Native Ligand</i>	17β-estradiol	-10,7	0.000	Agonis	His524(Hidrogen) Glu 353(Hidrogen) Arg394(Hidrogen)	11.119
1	11-Aminoundecanoic acid	-5,2	2,456	Agonis	His524(Hidrogen) Glu 353(Hidrogen)	10.438
2	Dibutyl phthalate	-6,2	0.000	-	-	-
3	2-(2-Pyridinyl)ethanamine	-4,3	0.000	-	Glu 353(Hidrogen)	-
4	megalanthoine	-5,2	4.069	-	His524(Unfavorable)	-
5	N,N-Dimethylphenethylamine	-3,7	0.000	-	-	-
6	Jasmonic acid	-6,4	6.039	-	Arg394(Hidrogen)	-
7	Loliolide	-6,4	3.065	-	His524(Hidrogen)	-
8	1-[2,3,4,6-Tetrakis-O-(2,2-dimethylpropanoyl)hexopyranosyl]-5-undecyl-2-vinyl-3-pyrrolidinone	111.5	0.000	-	His524(Hidrogen)	-
9	BI6015	-7,2	0.000	-	His524(Hidrogen)	-
10	Diethyltoluamide	-6,5	0.000	-	-	-
11	Cetylamine	-4,8	3.836	-	Glu353(Hidrogen)	-
12	portentol	-6,2	0.000	-	-	-
13	3-(Hexadecylamino)-1,2-propanediol	-4,4	4.102	-	His524(Alkyl)	-
14	4-Amino-5-chloro-N-[2-(diethylamino)ethyl]-2-[2-(methylsulfonyl)ethoxy]benzamide	-3,7	4.450	-	His524(Unfavorable); Glu353(Carbon)	-

15	Pentaethylene Glycol	-3,4	3.531	-	Glu353(Hidrogen)	-
16	Caffeine	-5.8	0.000	-	-	-
17	Myricetin	34,9	0.000	-	-	-
18	(4E)-N-[2,4-Bis(2-methyl-2-butanyl)phenyl]-4-[[4-(diethylamino)phenyl]imino]-1-oxo-1,4-dihydro-2-naphthalenecarboxamide	-	-	-	-	-
19	1-(2,5-Dioxo-1-pyrrolidinyl) 4-(2-methyl-2-propanyl) N-[[2-methyl-2-propanyl)oxy]carbonyl]-L-aspartate	-2,5	2.168	-	His524(Alkyl)	-
20	4-{(E)-[(1,7-Diphenyl-2,3,6,7-tetrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinolin-9-yl)imino]methyl}-N,N-dimethylaniline	-	-	-	-	-
21	1-[(6,7-Dimethyl-2-oxo-1,2-dihydro-3-quinolinyl)methyl]-1,3-bis[3-(4-morpholinyl)propyl]thiourea	7,5	0.000	-	-	-
22	N,N',N''-Tris[1-(2,5-dimethylphenyl)ethyl]-1,3,5-benzenetricarboxamide	-	-	-	-	-
23	N-[4-Ethoxy-3-(1-pyrrolidinylsulfonyl)phenyl]-2-[4-(2-	43,9	0.000	-	His524(Hidrogen)	-

	pyrimidinyl)-1-piperazinyl]acetamide					
24	Lauryldiethanolamine	-5,2	2.242	Agonis	His524(Alkyl);Glu353(Unfavorable);Arg394(Hidrogen)	10.594
25	N-[(2-Isopropoxyethyl)sulfonyl]glycyl-O,2-dimethylserine	-4,6	4.454	Agonis	His524(Hidrogen);Glu353(Carbon)	9.017
26	Safingol	-3,9	5.329	Agonis	His524(Pi-Sigma);Glu353(Hidrogen);Arg394(Unfavorable)	10.776
27	4-[2-(Isopropylamino)-2-oxoethoxy]-3-methoxy-N-[2-(1-piperazinyl)ethyl]benzamidehydrochloride	46,6	0.000	Agonis	His524(Hidrogen);Glu353(Carbon)	11.875
28	2,2'-(Hexadecylimino)diethanol	-3,9	2.903	Agonis	His524(Alkyl);Glu353(Hidrogen)	9.120
29	N-(2-Hydroxyethyl)icosanamide	-2,3	4.355	-	Glu353(Carbon);Arg394(Unfavorable)	-

Lampiran 3. Tabel Hasil *Molecular Docking* 29 Senyawa terhadap Protein 3OLS

No	Nama Senyawa	<i>Binding Affinity</i> (kkal/mol)	Rmsd Average (Å)	Interaksi	Asam amino (Jenis Ikatan)	Jarak Farmokofor (Å)
<i>Native Ligand</i>	17β-estradiol	-10.7	0.000	Agonis	His524(Hidrogen) Glu 353(Hidrogen) Arg394(Hidrogen)	11.119
1	11-Aminoundecanoic acid	-5.5	2.350	Agonis	His475(Hidrogen) Glu305(Hidrogen) Arg346(Unfavorable)	10.462
2	Dibutyl phthalate	-6,8	0.000	-	-	-
3	2-(2-Pyridinyl)ethanamine	-4,8	0.000	-	Glu305(Hidrogen)	-
4	Megalanthoine	-7,2	0.000	-	His475(Hidrogen);Glu305(Carbon)	9.623
5	N,N-Dimethylphenethylamine	-5,6	0.000	-	-	-
6	Jasmonic acid	-6,6	2.619	-	-	-
7	Loliolide	-6,3	3.090	-	-	-
8	1-[2,3,4,6-Tetrakis-O-(2,2-dimethylpropanoyl)hexopyranosyl]-5-undecyl-2-vinyl-3-pyrrolidinone	26,7	0.000	-	-	-
9	BI6015	-7.5	0.000	-	Arg346(Hidrogen)	-
10	Diethyltoluamide	-6,9	0.000	-	-	-
11	Cetylamine	-5,8	0.000	Agonis	His475(Alkyl);Glu305(Hidrogen)	9.060
12	portentol	-7,1	0.000	-	-	-
13	3-(Hexadecylamino)-1,2-propanediol	-5,3	4.566	-	Glu305(Unfavorable)	-
14	4-Amino-5-chloro-N-[2-(diethylamino)ethyl]-2-[2-(methylsulfanyl)et	-4	4.760	-	His 475 (Alkyl)	-

	hoxy]benzamide					
15	Pentaethylene Glycol	-4.1	3.613	-	Glu305(Hidrogen);Arg346(Unfavorable)	-
16	Caffeine	-6.1	0.000	-	Glu305(Carbon)	
17	Myricetin	-	-	-	-	-
18	(4E)-N-[2,4-Bis(2-methyl-2-butanyl)phenyl]-4-{{4-(diethylamino)phenyl}imino}-1-oxo-1,4-dihydro-2-naphthalenecarboxamide	-	-	-	-	-
19	1-(2,5-Dioxo-1-pyrrolidinyl) 4-(2-methyl-2-propanyl) N-{{(2-methyl-2-propanyl)oxy}carbonyl}-L-aspartate	-4.2	3.454	-	His 475 (Alkyl)	-
20	4-{(E)-[(1,7-Diphenyl-2,3,6,7-tetrahydro-1H,5H-pyrido[3,2,1-ij]quinolin-9-yl)imino]methyl}-N,N-dimethylaniline	-	-	-	-	-
21	1-[(6,7-Dimethyl-2-oxo-1,2-dihydro-3-quinoliny]methyl)-1,3-bis[3-(4-morpholiny]propyl]thiourea	5.5	0.000	-	-	-
22	N,N',N''-Tris[1-(2,5-dimethylphenyl)ethyl]-1,3,5-benzenetricarboxamide	-	-	-	-	-
23	N-[4-Ethoxy-3-(1-	55.2	0.000	Agonis	His475(Hidrogen);Gl	8.674

	pyrrolidinylsulfonylphenyl]-2-[4-(2-pyrimidinyl)-1-piperazinyl]acetamide				u305(Carbon)	
24	Lauryldiethanolamine	-5.6	2.688	Agonis	His475(Alkyl);Glu305(Hidrogen)	11.115
25	N-[(2-Isopropoxyethyl)sulfonyl]glycyl-O,2-dimethylserine	-5.7	0.000	Agonis	His475(Hidrogen);Glu305(Hidrogen)	10.028
26	Safingol	-4.6	2.764	Agonis	His475(Alkyl);Glu305(Hidrogen)	10.021
27	4-[2-(Isopropylamino)-2-oxoethoxy]-3-methoxy-N-[2-(1-piperazinyl)ethyl]benzamidehydrochloride	-2.6	2.450	-	Glu305(Carbon);Arg346(Hidrogen)	-
28	2,2'-(Hexadecylimino)diethanol	-5.5	4.212	-	Glu305(Hidrogen)	-
29	N-(2-Hydroxyethyl)icosanamide	-4.6	3.607	-	-	-



KEMENTERIAN AGAMA REPUBLIK INDONESIA
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS KEDOKTERAN DAN ILMU KESEHATAN

Jl. Locari, Tlekung, Kota Batu, Tlp. 03415057739, Website: <http://fkik.uin-malang.ac.id>.
Email: fkik@uin-malang.ac.id (Fakultas), farmasi@uin-malang.ac.id (Prodi Farmasi)

LEMBAR PERSETUJUAN PERBAIKAN (REVISI)
NASKAH SKRIPSI

Naskah Skripsi yang disusun oleh:

Nama : Luqman Alfani Najib
NIM : 17930024
Judul : Prediksi Senyawa Fitoestrogen yang Berpotensi Antiosteoporosis Pada Ekstrak Etanol 96% Daun Kenitu (*Chrysophyllum cainito* L.) terhadap *Estrogen Receptor α* (1A52) dan *Estrogen Receptor β* (3OLS) Secara *In Silico*

Tanggal Sidang Skripsi : 16 Juli 2021

Telah dilakukan perbaikan sesuai dengan saran tim pembimbing dan tim penguji.

NO	NAMA DOSEN	TANGGAL REVISI	TANDA TANGAN
1.	Meilina Ratna D., S.Kep.,NS.,M.Kep	31-08-2021	
2.	Ach. Nasichuddin, M.A.	27-07-2021	
3.	Ria Ramadhani D. A., S.Kep.,NS.,M.Kep	31-08-2021	
4.	Dr. apt. Burhan Ma'arif Z.A, M.Farm	31-08-2021	

Catatan :

1. Batas waktu maksimum melakukan revisi skripsi adalah 2 Minggu semenjak tanggal ujian skripsi, jika tidak selesai maka mahasiswa **HARUS** ujian ulang
2. Lembar revisi dilampirkan dalam naskah skripsi yang telah dijilid (foto copy), dan aslinya dikumpulkan di Bagian Unit Tugas Akhir Program Studi Farmasi selanjutnya mahasiswa berhak menerima Bukti Lulus Ujian Skripsi

Malang, 30 Juli 2021
Mengetahui
Koordinator Unit Tugas Akhir

Ria Ramadhani D. A., S.Kep.,NS.,M.Kep
NIP/NIDT. 19850617 200912 2 005