

**SKRINING VIRTUAL SENYAWA AKTIF DAUN ASAM JAWA
(*Tamarindus indica* L.) SEBAGAI ANTIKANKER PAYUDARA
BERDASARKAN IDENTIFIKASI FARMAKOFOR DAN *MOLECULAR
DOCKING***

Suci Ayutriani
Program Studi S1 Farmasi Universitas Garut
Email: scytrn@gmail.com

ABSTRAK

Kanker payudara adalah tumor ganas yang terbentuk dari sel-sel payudara yang tumbuh dan berkembang tanpa terkendali sehingga dapat menyebar di antara jaringan atau organ di dekat payudara atau ke bagian tubuh lainnya. Dilaporkan ekstrak daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan antiinflamasi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan senyawa dalam daun asam jawa yang diprediksi memiliki aktivitas antikanker payudara karena memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan antiinflamasi maka dilakukan pengujian dengan proses penambatan molekul pada senyawa aktif daun asam jawa terhadap ER- β (Estrogen Reseptor β). Penambatan 18 senyawa aktif daun asam jawa telah dilakukan terhadap ER- β menggunakan metode identifikasi farmakofor dengan LigandScout 4.3 dan *molecular docking* dengan AutoDockTools 1.5.6. Hasil penambatan diperoleh satu senyawa aktif daun asam jawa sebagai senyawa pemandu terhadap ER- β yaitu β -Sitosterol yang memiliki nilai *pharmacophore fit score* sebesar 44.33% dan memiliki nilai ikatan energi bebas (ΔG) sebesar -12.39 kkal/mol dimana lebih rendah dibandingkan dengan senyawa pembanding Genistein yang merupakan ligan alami dari reseptor yang digunakan yaitu sebesar -9.60 kkal/mol. Dengan residu asam amino yang terikat pada β -Sitosterol yaitu GLU305 dan ARG346. Dari hasil prediksi parameter absorpsi dan distribusi menunjukkan bahwa senyawa β -Sitosterol memiliki nilai Caco-2 cell sebesar 52.3734 nm^{sec-1}, %HIA sebesar 100% dan %Protein Plasma Binding sebesar 100%. Untuk pengujian toksisitasnya, β -Sitosterol bersifat non-mutagenik dan tidak bersifat karsinogenik. Hal ini menunjukkan bahwa β -Sitosterol memiliki potensi sebagai antikanker payudara dibandingkan dengan senyawa aktif daun asam jawa lainnya.

Kata kunci: penambatan molekul, skrining farmakofor, antikanker payudara, reseptor estrogen beta, asam jawa

***VIRTUAL SCREENING ACTIVE COMPOUND OF TAMARIND LEAVES
(Tamarindus indica L.) AS A BREAST ANTICANCER BASED ON
PHARMACOPHORE IDENTIFICATION AND MOLECULAR DOCKING***

ABSTRACT

Breast cancer is malignant tumor which is formed since breast cells grow and develop uncontrollably thus it spreads between tissues or organs around the breast or the other body parts. It is reported that tamarind leaves extract (*Tamarindus indica L.*) has an action as antioxidant and anti-inflammatory. Based on the explanation, to gain the compounds in tamarind leaves which are expected has anticancer breast action, because they have antioxidant and antiinflammatory, a molecular docking process in the active compound of tamarind leaves toward ER- β (Estrogen receptor β) is conducted. The mooring of 18 active compounds of tamarind leaves was carried out on ER- β using the method of identifying pharmacophores with LigandScout 4.3 and molecular docking with AutoDockTools 1.5.6. The mooring results obtained by an active compound of tamarind leaves as a lead compound toward ER- β , specifically β -Sitosterol which has a pharmacophore fit score of 44.33% and a binding energy value (ΔG) of -12.39 kcal / mol is lower than Genistein compound which is a natural ligand from the receptor used is equal to -9.60 kcal / mol. Through amino acid residues bound to β -Sitosterol that is GLU305 and ARG346. From the results of the absorption parameters and distribution predictions, the β -Sitosterol compound has a Caco-2 cell value of 52.3734 nm^{sec-1}, % HIA of 100% and % Protein Plasma Binding of 100%. Moreover, the result of toxicity testing, β -Sitosterol is non-mutagenic and not carcinogenic. It can be concluded that β -Sitosterol has potential as an anticancer breast compared to other active compounds of tamarind leaves.

Keywords: *molecular docking, pharmacophore screening, breast anticancer, beta estrogen receptor, tamarind*

I. PENDAHULUAN

Kanker adalah istilah umum untuk sekelompok besar penyakit yang ditandai oleh pertumbuhan sel abnormal di luar batas biasanya yang kemudian dapat menyerang bagian tubuh yang berdekatan atau menyebar ke organ lain. Kanker dapat mempengaruhi hampir semua bagian tubuh serta memiliki banyak subtype anatomi dan molekuler yang masing-masing memerlukan strategi manajemen yang spesifik.¹

Data Globocan menyebutkan pada tahun 2018 terdapat 18,1 juta kasus baru dengan angka kematian sebanyak 9,6 juta kematian, dimana 1 dari 5 laki-laki dan 1 dari 6 perempuan di dunia mengalami kejadian kanker. Data tersebut juga menyatakan 1 dari 8 laki-laki dan 1 dari 11 perempuan, meninggal karena kanker.²

Saat ini, salah satu jenis penyakit kanker yaitu kanker payudara menjadi jenis kanker yang sangat menakutkan bagi perempuan di seluruh dunia, juga di Indonesia. Kanker payudara adalah tumor ganas yang terbentuk dari sel-sel payudara yang tumbuh dan berkembang tanpa terkendali sehingga dapat menyebar di antara jaringan atau organ di dekat payudara atau ke bagian tubuh lainnya.³

Estrogen diketahui berperan memacu pertumbuhan dan *survival* sel epitelial payudara normal dan sel kanker payudara dengan berikatan dan mengaktivasi reseptor estrogen. Sel-sel kanker payudara yang mengekspresikan reseptor estrogen dijumpai pada sekitar 70% kanker payudara; jenis ini disebut kanker payudara reseptor estrogen atau reseptor hormon positif.³

Tumbuhan Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) merupakan salah satu tumbuhan yang banyak dibudidayakan di negara tropis sehingga dapat dengan mudah ditemukan termasuk di Indonesia. Tumbuhan ini biasanya dimanfaatkan sebagai bahan pengobatan tradisional. Bagian tumbuhan *Tamarindus indica* L. yang biasa digunakan untuk pengobatan antara lain bagian daun, kulit batang, daging buah, dan juga bijinya. Kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak daun *Tamarindus indica* L. yang berupa flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol. Dimana senyawa fenol mempunyai sifat efektif menghambat pertumbuhan virus, bakteri, dan jamur. Senyawa flavanoid merupakan senyawa aktif yang dapat digunakan sebagai antioksidan, antibakteri dan antiinflamasi.⁴

Morris *et al.* menyatakan penambatan molekuler merupakan kunci dalam perangkat perancangan obat yang merupakan kombinasi teknik komputasi dan data struktur molekul biologi untuk memprediksi bentuk ikatan yang dominan antara ligan dengan targetnya yang struktur tiga dimensinya diketahui. Tujuan dari aplikasi penambatan molekuler adalah untuk memahami dan memprediksi interaksi ligan-protein, baik mencari mode ikatan yang baik secara struktur maupun memprediksi afinitas ikatan berdasarkan energi. Farmakofor berbasis struktur (SBPs) adalah metode alternatif untuk pendekatan berbasis ligan dan memiliki keuntungan untuk menggambarkan keseluruhan kemampuan interaksi dari kantong pengikat.⁵

Berdasarkan uraian di atas, untuk mendapatkan senyawa dalam daun asam jawa yang diperkirakan memiliki aktivitas antikanker payudara karena memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan antiinflamasi maka dilakukan pengujian dengan proses penambatan molekuler pada senyawa aktif daun asam jawa terhadap reseptor estrogen- β .

Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan kandidat senyawa baru sebagai antikanker payudara yang berasal dari senyawa aktif daun asam jawa sehingga dapat menjadi alternatif sumber bahan baku obat yang dapat memberikan manfaat bagi masyarakat, dengan

potensi efek yang setara atau lebih dari pada ligan pembanding, tetapi memiliki efek samping yang lebih minimal, serta dapat dimanfaatkan untuk penelitian selanjutnya.

II. METODE PENELITIAN

Pada penelitian ini dilakukan skrining farmakofor untuk melihat kemiripan senyawa uji dengan ligan alami Genistein. Metode ini bertujuan untuk memperoleh farmakofor dari protein target dengan menggunakan informasi lokasi protein aktif. Parameter yang diamati yaitu nilai *pharmacophore fit score*, dan grafik ROC (*Area Under Curve* dan *Enrichment Factor*).

Dengan menggunakan program LigandScout[®] 4.3 kemudian membuat farmakofor 3D berbasis ligan dengan *database* (*active* dan *decoy*) yang diunduh melalui situs <http://dude.docking.org>. Selanjutnya membuat farmakofor dari kompleks protein-ligan dengan mengunduh makromolekul dengan identitas 1QKM melalui situs <http://www.rcsb.org/pdb/>. Kemudian dilakukan validasi dan skrining farmakofor pada senyawa uji yang terkandung dalam daun asam jawa (*Tamarindus Indica* L.) yang diunduh melalui situs <http://PubChem.ncbi.nlm.nih.gov> dengan format .sdf kemudian dikonversi dengan program *MarvinSketch*[®] menjadi senyawa dengan format .mol.

Penelitian dilanjutkan dengan *molecular docking* untuk melihat kekuatan ikatan guna mendukung hasil dari skrining farmakofor dan melihat aktivitas dari senyawa-senyawa uji.

Dengan menggunakan program *Discovery Studio Visualizer*[®] kemudian dilakukan preparasi reseptor dengan menghilangkan residu seperti molekul air dan ligan alaminya, sehingga didapat reseptor tanpa terikat dengan residu. Hasil preparasi reseptor tersebut kemudian disimpan dalam format .pdb.

Ligan atau senyawa uji terlebih dahulu digambar ulang dengan menggunakan program ChemDraw[®] Ultra 12.0 dan diminimasi energi menggunakan program Chem3D[®] Pro 12.0 kemudian disimpan dengan format .pdb.

Setelah database terpenuhi, selanjutnya *molecular docking* dilakukan dengan menggunakan aplikasi Autodock4 Tools[®]. Setelah *docking*, selanjutnya dipelajari secara visualisasi untuk interaksi hidrogenasi melalui aplikasi *Discovery Studio Visualizer*[®].

III. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Reseptor merupakan protein penting yang ada di dalam tubuh sebagai tempat terikatnya molekul obat atau ligan. Pemilihan reseptor didasarkan pada aktivitas farmakologi dan mekanismenya secara biokimia. Untuk terapi kanker payudara pada penelitian kali ini, target yang dipilih sebagai reseptor adalah reseptor estrogen- β .

Pada tahap ini, struktur makromolekul yang digunakan diunduh dari situs <http://www.rcsb.org/>. Identitas protein yang dipilih adalah 1QKM yang merupakan struktur *Selective Estrogen Receptor Modulators* (SERM) pada manusia (*Homo Sapiens*) yang diperoleh dari difraksi sinar-X dengan resolusi 1,8 Å. Struktur ini diunduh dengan format .pdb.

Ligan yang digunakan pada penelitian ini adalah kandungan senyawa aktif dari daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.). Struktur tiga dimensinya didapatkan dari situs Pubchem

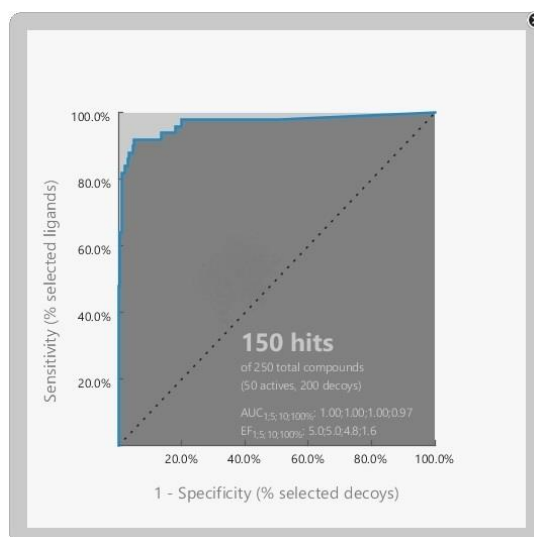
dengan format .sdf yang kemudian dikonversi menggunakan perangkat lunak MarvinSketch[®] menjadi format .mol. Jumlah kandungan total senyawa aktif dalam daun asam jawa terdapat 18 senyawa.

Sebagai pembandingnya, digunakan Genistein sebagai salah satu senyawa polifenol golongan isoflavon yang strukturnya menyerupai struktur estrogen sehingga senyawa ini disebut fitoestrogen. Kemiripan ini menyebabkan beberapa sifat genistein menyerupai estrogen. Fitoestrogen berfungsi sebagai modulator reseptor estrogen selektif alami (ER). Afinitas ikatan genistein untuk ER- β adalah 87%, dibandingkan dengan estradiol. Oleh karena itu, disarankan agar genistein memblokir pengikatan estrogen yang lebih kuat pada reseptor, sehingga memainkan peran potensial dalam mencegah kanker terkait endokrin. Struktur tiga dimensinya didapatkan dari situs Pubchem dengan format .sdf yang kemudian dikonversi menggunakan perangkat lunak MarvinSketch[®] menjadi format .mol.

Dengan menggunakan program LigandScout[®] 4.3 kemudian dibuat farmakofor 3D berbasis ligan dengan *database* (*active* dan *decoy*) yang diunduh melalui situs <http://dude.docking.org> dengan format .sdf kemudian dikonversi dan disimpan dengan format .ldb. *Database active* yang digunakan merupakan kumpulan ligan yang diketahui dan terbukti memiliki aktivitas terhadap reseptor estrogen beta dan *database decoy* merupakan ligan yang memiliki struktur mirip dengan ligan aktif namun tidak memiliki aktivitas atau tidak menimbulkan interaksi pada reseptor. *Database* berfungsi sebagai penyaring ligan yang akan diuji apakah memiliki kemiripan struktur farmakofor atau tidak dengan *Receiver Operating Characteristic Curve* (kurva ROC), dimana munculnya data *hit score* dengan berapa jumlah senyawa yang mirip atau *hit* dengan senyawa dari *database active* dan *decoy*.

Penurunan farmakofor akan ditampilkan dalam bentuk tabel di sebelah kanan menunjukkan beberapa solusi farmakofor. Setelah dilakukan pengujian, kemudian didapatkan 10 model farmakofor dan diambil farmakofor terbaik yaitu model-1 dengan nilai 0,7844 dimana nilai tersebut sudah termasuk ke dalam syarat farmakofor yang baik yaitu lebih dari 50% atau 0.5.

Skrining virtual farmakofor bertujuan pada pengayaan maksimum senyawa aktif pada daftar hit. Oleh karena itu, metode tersebut biasanya divalidasi dengan menilai akurasi diskriminasi antara senyawa aktif dan *decoy*. Validasi dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui bahwa perangkat lunak yang digunakan yaitu LigandScout dapat digunakan pada penelitian ini. Model farmakofor yang baik akan mampu mengidentifikasi sebagian besar senyawa aktif yang dikenal dan sesedikit mungkin *decoy*. Hasilnya diketahui bahwa dari total senyawa aktif dan decoy yaitu 250 didapatkan 150 senyawa hit dan nilai AUC₁₀₀ sebesar 0.97. Ini artinya, metode dapat digunakan karena memenuhi persyaratan yaitu nilai AUC₁₀₀ \geq 70% atau 0.7.



Gambar III.1 Kurva hasil validasi (kurva ROC)

Analisis skrining farmakofor menggunakan LigandScout secara otomatis dapat memperoleh fitur-fitur kimia utama, seperti donor dan akseptor ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, interaksi aromatik positif dan negatif terionisasi bersama dengan bentuk 3D-geometri dari molekul bioaktifnya. Selain itu, hasilnya dapat dilihat dari nilai *pharmacophore fit score*. Suatu senyawa uji dapat dikatakan mirip atau memiliki kecocokan dengan senyawa pembandingnya apabila nilai *pharmacophore fit score* lebih dari 50%.²²

Setelah dilakukan pengujian farmakofor pada 18 senyawa aktif daun asam jawa, hasilnya didapatkan 3 senyawa hit terhadap reseptor estrogen- β yaitu Phytol, β -Sitosterol dan 6,10,14-trimethylpentadeca-5,9,13-trien-2-one dengan nilai *pharmacophore fit score* dan fitur-fitur kimia pada masing-masing senyawa sebagai berikut:

Tabel III.1

Hasil Skrining Farmakofor Senyawa Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.)

No	Nama Senyawa	Pharmacophore Depiction	Pharmacophore Fit Score (%)
1	Phytol	■ ■ ■ ■	45.31
2	β -Sitosterol	■ ■ ■ ■	44.33
3	6,10,14-trimethylpentadeca-5,9,13-trien-2-one	■ ■ ■	34.65

Keterangan: warna kuning = interaksi hidrofobik
 warna merah = akseptor ikatan hidrogen
 warna hijau = donor ikatan hidrogen

Selanjutnya, dilakukan pengujian *molecular docking*. Untuk melakukan penyiapan reseptor, dilakukan penghilangan molekul air dan ligan alami untuk mendapatkan struktur sekunder yang murni dari pengotor dan kemudian disimpan dalam format .pdb. Sebelum dilakukan penambatan, reseptor dioptimasi terlebih dahulu dengan cara ditambahkan atom hidrogen untuk memberikan stabilitas yang tinggi kepada struktur α -heliks dan β -sheet pada rantai polipeptida. Dengan begitu, reseptor siap digunakan untuk penambatan molekul dengan ligan.

Setelah reseptor siap digunakan, dilakukan terlebih dahulu proses validasi dengan cara melakukan *re-docking* pada reseptor murni yang telah dipisahkan dari pengotor dan ligan alaminya untuk mengetahui validitas metode dan untuk melihat perhitungan nilai RMSD (Root Mean Square Deviation). RMSD adalah parameter yang digunakan untuk melihat kemiripan antara ligan hasil *docking* dengan hasil kristalografi.

Dari hasil *re-docking* didapatkan nilai RMSD sebesar 1,795 Å yang artinya reseptor tersebut memenuhi syarat karena nilai hasil RMSD < 2Å dan dapat digunakan sebagai target penambatan molekul. Dari hasil tersebut juga dapat dikatakan bahwa metode yang digunakan sudah valid dan dapat dilakukan langkah pengujian selanjutnya.

Ligan yang digunakan pada penelitian ini adalah senyawa aktif dari daun asam jawa (*Tamarindus indica* L.) dan sebagai pembandingnya digunakan ligan alami dari reseptor yaitu Genistein. Ligan atau senyawa uji terlebih dahulu digambar ulang dengan menggunakan program ChemDraw[®] Ultra 12.0 yang kemudian diminimasi energi menggunakan program Chem3D[®] Pro 12.0 kemudian disimpan dengan format .pdb agar dapat ditambatkan terhadap reseptor target.

Dilakukan minimasi energi agar semua atom di dalam sistem molekul berada pada keadaan paling stabil pada permukaan energi. Setiap perpindahan dari minimum dapat berakibat terbentuknya konfigurasi molekul dengan energi yang lebih tinggi. Pada permukaan energi terdapat beberapa puncak maksimum dan puncak minimum, dan yang disebut dengan energi global minimum adalah puncak minimum yang memiliki nilai energi terendah.

Analisis sifat fisika kimia ligan dilakukan berdasarkan *Lipinski rule of five*. Aturan Lipinski dapat menunjukkan tingkat hidrofob/hidrofilitas molekul obat sebelum dilakukan simulasi *docking*. Aturan Lipinski tersebut adalah (1) berat molekul kurang dari 500 Da (2) logP kurang dari 5, (3) jumlah donor ikatan hidrogen kurang dari 5, dan (4) jumlah akseptor ikatan hidrogen kurang dari 10 (Lipinski, dkk. 1997).

Sifat fisikokimia ligan berdasarkan aturan Lipinski digunakan untuk menentukan karakter hidrofobik/hidrofilik suatu senyawa untuk melalui membran sel secara difusi pasif. Berat molekul yang lebih dari 500 Da tidak dapat berdifusi menembus membran sel dengan cara difusi pasif. Nilai logP menyatakan koefisien kelarutan dalam lemak/air yang memiliki rentang -0,4 – 5. Semakin besar nilai logP, 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* dan terdistribusi lebih luas di dalam tubuh sehingga selektivitas ikatan terhadap enzim target menjadi berkurang. Nilai logP yang terlalu negatif juga tidak baik karena molekul tersebut tidak dapat melewati membran *lipid bilayer*. Jumlah donor dan akseptor ikatan hidrogen mendeskripsikan semakin tinggi kapasitas ikatan hidrogen, maka semakin tinggi energi yang dibutuhkan agar proses absorpsi

dapat terjadi. Secara umum aturan Lipinski menggambarkan solubilitas senyawa tertentu untuk menembus membrane sel oleh difusi pasif (Lipinski, dkk. 1997).

Dari ke 18 senyawa yang diuji secara *molecular docking*, semua senyawa memenuhi persyaratan dari *Lipinski rule of five*. Yang artinya sifat fisika kimia senyawa yang terkandung dalam daun asam jawa ini memiliki profil difusi pasif yang baik karena bobot molekul rata-rata kurang dari 500 Da dan dapat dibuat sediaan oral.

Penambatan molekul pada senyawa uji dilakukan dengan cara yang sama dengan proses validasi dengan menggunakan penentuan ukuran *grid box* dan parameternya, kemudian kalkulasi *autogrid4* akan menghasilkan parameter *mapping*.

Setiap ligan dilihat berdasarkan keberadaan atom-atomnya. Setelah itu akan dihasilkan *map* aromatis (A), karbon (C), hidrogen (HD), nitrogen (N), nitrogen aromatis (NA), oksigen aromatis (OA), belerang (S), klor (Cl), bromium (Br), tergantung dari jenis ligan yang akan digunakan. Selain itu, ada juga *map* elektrostatis (e) dan desolvasi (d). Semua jenis berkas pemetaan (*mapping*) memiliki keluaran berkas *.map*. Selain *mapping*, *grid* juga menghasilkan keluaran berkas *.glg*.

Koordinat yang digunakan dalam penambatan molekul yakni dengan pusat koordinat (X,Y,Z) berurut-turut, yaitu 22.405, 8.274, dan 113.381. Volume *grid* penambatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 40 x 40 x 40 Å dengan spacing 0.375. Pada parameter penambatan, dilakukan perubahan pada *Number of GA Runs* menjadi 100. Setiap *Number of GA Runs* digunakan *Maximum Number of Evaluation Medium*, yaitu 2.500.000.

Pada proses penambatan molekul dengan menggunakan *AutoDock Tools* ini, reseptor yang digunakan dibuat rigid sedangkan ligan dibuat fleksibel. Hal ini dilakukan untuk penyesuaian struktur ligan yang paling stabil untuk berinteraksi dengan reseptor.

Parameter yang diamati untuk penentuan afinitas senyawa uji terhadap reseptor adalah nilai ikatan energi (ΔG) dan konstanta inhibisi (KI). Semakin negatif nilai ikatan energi dan semakin kecil nilai konstanta inhibisi menunjukkan afinitas ligan yang semakin tinggi. Akan tetapi, yang menjadi parameter hasil terbaik dari proses *docking* ini bukan hanya dilihat dari afinitas ligan dengan reseptor berdasarkan nilai ΔG dan KI saja, namun dilihat juga residu asam amino dari interaksi ikatan hidrogen dengan reseptor.

Analisis hasil penambatan molekul dapat dilihat dari nilai energi bebas Gibbs atau energi ikatan (ΔG) dan konstanta inhibisi (KI). Semakin rendah nilai energi ikatannya, maka ikatan kompleks senyawa dengan reseptor akan semakin kuat karena terjadi kestabilan dan kekuatan interaksi non-kovalen pada senyawa dengan reseptor.

Dari ke-18 senyawa daun asam jawa yang berhasil ditambatkan, diperoleh hasil 2 senyawa yang energi ikatannya lebih rendah dibanding ligan alami dan ligan pembandingnya. Diperoleh nilai energi ikatan dari ligan alami Genistein ialah -9.60 kkal/mol. Senyawa yang memiliki energi lebih rendah dari ligan pembandingnya yaitu β -Sitosterol dengan nilai ikatan energi -12.39 dan Cryptopinone dengan nilai ikatan energi -10.53; pada penelitian ini diambil 1 senyawa uji yang memiliki ikatan energi lebih rendah dibandingkan dengan ligan pembandingnya berdasarkan parameter ΔG dan KI yaitu β -Sitosterol.

Selain parameter nilai ΔG dan KI, diamati juga interaksi residu (asam amino) reseptor dengan ligan dari ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen merupakan ikatan antar atom H yang mempunyai muatan positif dengan atom lain yang bersifat elektronegatif seperti O, N, dan F. Ikatan hidrogen dapat menstabilkan interaksi antara ligan dengan reseptor.

Berdasarkan data yang dihasilkan, terdapat interaksi antara ligan alami Genistein dengan reseptor yang menghasilkan 5 residu asam amino yaitu GLY472, HIS475, LEU298, GLU305 dan ARG346. Senyawa uji dengan energi yang lebih rendah dari ligan pembanding yaitu β -Sitosterol menunjukkan 2 ikatan hidrogen dengan residu asam amino GLU305 dan ARG346.

PreADME merupakan pengujian yang dilakukan untuk memprediksi profil farmakokinetika dari senyawa yang telah diketahui nilai fungsi scoringnya yaitu ΔG dan KI. Pengujian tersebut dilakukan pada situs resmi PreADME <http://preadmet.bmdrc.org/> dengan menggambar terlebih dahulu struktur senyawa pada halaman situs lalu pilih submit sehingga program akan secara otomatis mengkalkulasikan informasi yang nantinya akan muncul mengenai parameter-parameter terkait farmakokinetika dari senyawa yang digambar.

Pada penelitian ini, data yang diambil sebagai parameter absorpsi yaitu permeabilitas sel *Human Colon Adenocarcinoma* (Caco-2) dan *Human Intestinal Absorption* (HIA). Sel Caco-2 sendiri merupakan parameter yang mewakili *in vitro* untuk dapat mengetahui bagaimana transpor obat melalui epitel intestinal yang berada dalam adenokarsinoma kolon manusia. Sedangkan parameter lain yaitu HIA sendiri mewakili *in vivo* yaitu nilai yang mengkalkulasikan bioavailabilitas dan absorpsi dari rasio ekskresi seperti melalui urin, empedu dan feses.

Parameter HIA ini penting karena apabila sediaan dibuat oral, maka senyawa tersebut harus mempunyai nilai absorpsi yang baik pada dinding usus agar dapat masuk ke pembuluh darah sehingga bisa mencapai reseptor targetnya. Nilai absorpsi rata-rata ada di tingkat *well-absorbed* yaitu berada di kisaran nilai 90-100%. Artinya tingkat absorpsi senyawa uji pada usus berada pada tingkat yang baik, dimana rata-rata senyawa dapat terabsorpsi dengan baik di usus. Untuk senyawa β -Sitosterol dengan energi terendah juga memiliki tingkat absorpsi yang baik.

Selain nilai permeabilitas dan nilai absorpsi, parameter yang diuji adalah distribusi yang diprediksi berdasarkan keterikatan pada protein plasma. Pada umumnya hanya obat dalam bentuk yang tidak terikat yang dapat berdifusi menembus membran sel dan berinteraksi dengan target farmakologi sehingga ikatan protein plasma berperan penting dalam efikasi obat. *Plasma protein binding* (PPB) merupakan fraksi obat yang tersedia dalam bentuk bebas untuk didistribusikan pada berbagai jaringan. Dari 18 senyawa yang diuji, seluruhnya memiliki keterikatan pada protein plasma yang kuat. Artinya, kandungan senyawa pada daun asam jawa ini tidak dapat berdifusi dengan baik menembus membran sel karena keterikatannya dengan protein plasma rata-rata lebih dari 90% yang bermakna senyawa-senyawa tersebut tidak bebas atau terikat pada protein plasma.

Pengujian lain yang dilakukan adalah pengujian toksisitas. Ada beberapa program pengujian toksisitas secara *in silico*, akan tetapi untuk pengujian toksisitas kali ini dilakukan pada situs resmi PreADMET dengan alamat <http://preadmet.bmdrc.org/>.

Dalam mengetahui kandidat obat dari suatu senyawa tertentu perlu dilakukan uji toksisitas agar aman digunakan oleh manusia. Pengujian toksisitas secara *in silico* diharapkan berguna untuk membantu uji toksisitas dalam skala laboratorium agar lebih efektif dan efisien dalam penggunaan waktu, pendanaan serta mengurangi faktor uji coba. Prediksi sifat toksisitas ligan bertujuan untuk mengetahui karakter daya toksisitas dari masing-masing ligan.²⁶

Pengujian toksisitas yang dilakukan kali ini ialah uji *Ames Toxicity* pada situs PreADMET. *Ames Test* merupakan metode yang digunakan secara luas untuk menilai potensi mutagenik senyawa dengan menggunakan bakteri. Mutagen merupakan agen yang dapat menyebabkan mutasi pada kromosom atau DNA dan menyebabkan perubahan pada informasi genetik. Sedangkan karsinogen ialah agen atau apa saja yang dapat memicu terjadinya kanker atau tumor.

Dari hasil uji toksisitas yang telah dilakukan kepada 18 senyawa uji, didapatkan hasil 6 senyawa bersifat mutagen dan 12 senyawa yang bersifat tidak mutagen. Sedangkan untuk senyawa yang bersifat karsinogen berjumlah 13 senyawa dan yang bersifat tidak karsinogen berjumlah 5 senyawa.

Setelah dilakukan pengujian skrining farmakofor dan *molecular docking*, dilihat kembali parameter yang digunakan sebelumnya yaitu *pharmacophore fit score*, nilai ikatan energi dan residu asam amino kemudian dapat ditentukan senyawa terbaiknya. β -Sitosterol memiliki kemiripan farmakofor dengan Genistein dan didukung dengan nilai ikatan energi yang lebih rendah. Dilihat dari residu asam aminonya pun, β -Sitosterol memiliki residu asam amino yang sama dengan ligan pembandingnya, artinya interaksi antara β -Sitosterol dengan reseptor dapat stabil.

Untuk senyawa Phytol yang memiliki kemiripan farmakofor dengan Genistein namun tidak didukung dengan nilai ikatan energi yang lebih rendah yaitu -8.92. Hal ini mungkin disebabkan oleh beberapa faktor seperti jarak ikatan, jenis ikatan dan jumlah ikatan yang terjadi. Jika dibandingkan dengan β -Sitosterol yang memiliki dua ikatan hidrogen, Phytol diketahui hanya memiliki satu ikatan hidrogen serta memiliki jarak ikatan yang lebih jauh yaitu 2.4 kkal/mol sedangkan β -Sitosterol yaitu 1.7 kkal/mol.

IV. SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Telah dilakukan pengujian farmakofor pada 18 senyawa aktif daun asam jawa dan hasilnya didapatkan 3 senyawa hit terhadap reseptor estrogen- β yaitu Phytol, β -Sitosterol dan 6,10,14-trimethylpentadeca-5,9,13-trien-2-one dengan nilai *pharmacophore fit score* berturut-turut sebesar 45.31%, 44.33% dan 34.65%. Kemudian dilakukan pengujian *molecular docking* terhadap 18 senyawa aktif daun asam jawa dan hasilnya didapatkan 2 senyawa aktif yaitu β -Sitosterol dengan nilai ikatan energi -12.39 dan Cryptopinone dengan nilai ikatan energi -10.53 yang memiliki nilai energi bebas lebih rendah dibandingkan dengan ligan pembanding Genistein.

Dalam penelitian ini diambil satu senyawa yaitu β -Sitosterol dengan nilai *pharmacophore fit score* mendekati 50% dan nilai energi ikatan terendah sebagai kandidat senyawa penuntun. Dari hasil prediksi parameter absorpsi dan distribusi menunjukkan bahwa senyawa β -Sitosterol memiliki nilai Caco-2 cell sebesar 52.3734 nm^{sec-1}, %HIA sebesar 100% dan %Protein Plasma Binding sebesar 100%. Untuk pengujian toksisitasnya, β -Sitosterol bersifat non-mutagenik dan tidak bersifat karsinogenik.

Hal ini menunjukkan bahwa β -Sitosterol memiliki potensi sebagai antikanker payudara dibandingkan dengan senyawa aktif daun asam jawa lainnya.

Saran

Karena memiliki %Protein Plasma Binding yang tidak memenuhi syarat maka perlu dilakukan penelitian lanjutan berupa modifikasi terhadap struktur senyawa β -Sitosterol agar memiliki potensi yang lebih baik sebagai antikanker payudara. Selain itu, dapat juga dilakukan pengujian secara *in vitro* maupun *in vivo* untuk menunjang penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. World Health Organization. Cancer [internet]. 2019 [cited 2019 Juni 03]. Available from: <http://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cancer>
2. Kementrian Kesehatan RI, B. K. dan P. M. Bulan Peduli Kanker Payudara. *InfoDATIN*. 2016. ISSN 2442-7659
3. Hani F. Efektivitas Ekstrak Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* L.) Terhadap Daya Hambat *Staphylococcus Epidermis* Sebagai Sumber Belajar Biologi [skripsi]. Malang: Program Studi S1 Pendidikan Biologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Malang; 2018. 12-16p [cited 2019 Juni 03]. Available from:<http://eprints.umm.ac.id/36842/>
4. Muchtaridi, Muhammad Yusuf. Teori dan Praktek Penambatan Molekul (Molecular Docking). Bandung: UNPAD Press; 2018: 15p, 64p.
5. Liwidjaja Kuntaraf, Kathleen H, dan Jonathan Oey Kuntaraf. Mengenal Kanker dan Antikanker. Bandung: Indonesia Publishing House; 2018.
6. Kumar Vinay, Abdul K. Abbas, dan Nelson Fausto. Robbins & Cotran Dasar Patologis Penyakit, Ed. 7. Jakarta: Buku Kedokteran EGC; 2005.
7. Tanto C. Kapita Selekt Kedokteran. In:4th ed. Jakarta: Media Aesculapius; 2014. 230-232p.
8. Hardman,JG, Limbird, LE. *Goodman & Gilman Dasar Farmakologi Terapi*. Volume 4. Edisi 10. Diterjemahkan oleh: Tim alih bahasa Sekolah Farmasi ITB. Jakarta: EGC; 2012.
9. Richard AH, Pamela CC. Farmakologi. 4th ed. Jakarta: EGC; 2016. 570p.
10. Jutti L, Resmi M. Pemodelan Molekul Dalam Kimia Medisinal. Yogyakarta: Graha Ilmu; 2012. 18p.
11. Satyajit Ds, Lutfun N. Kimia Untuk Mahasiswa Farmasi. Yogyakarta: Pustaka Pelajar; 2009. 37-40p.
12. Wolber, G.; Dornhofer, A. A.; Langer, T.; Efficient overlay of small organic molecules using 3D pharmacophores *J. Comput. Aided Mol. Des.*; 2007; 20(12); 773-788. DOI: 10.1007/s10822-006-9078-7
13. Nurzamzam M. Virtual Screening Senyawa Turunan Kalkon Sebagai Antikanker Paru-paru Menggunakan Metode Penambatan Molekul [skripsi]. Garut: Program Studi S1 Farmasi Universitas Garut; 2017.
14. David A. Evans. "History of the Harvard ChemDraw Project". *Angewandte Chemie*

International Edition 53. 2014; 11140–11145. DOI:10.1002/anie.201405820

15. RCSB. *About the PDB Archive and the RCSB PDB*. Retrieved from Protein Data Bank. 2014. [dilihat: 12 Juni 2019] <http://www.rcsb.org/pdb.html>
16. Fikri, M. Awaluddin. Studi Penambatan Molekul Senyawa-Senyawa Flavonoid dari Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia L*) Pada Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gam [skripsi]. Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN; 2014. 17-24p
17. Mysinger, M. M., Carchia, M., Irwin, J. J., & Shoichet, B. K. *Directory of Useful Decoys, Enhanced (DUD-E): Better Ligands and Decoys for Better Benchmarking. Journal of Medicinal Chemistry*, 55(14). 2012. 6582–6594. DOI:10.1021/jm300687e
18. Gustafsson, J. Å., & Warner, M. Estrogen receptor β in the breast: Role in estrogen responsiveness and development of breast cancer. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 74(5). 2000. 245–248p DOI:10.1016/S0960-0760(00)00130-8
19. Hamzah, N., Najib, A., Thahir, N., & Misqawati, I. *Studi Farmakofor Reseptor COX-2 Sebagai Anti Inflamasi*. 2(3). 2015. 99–107p
20. Muchtaridi, M., Syahidah, H. N., Subarnas, A., & Yusuf, M. (n.d.). *Molecular Docking and 3D-Pharmacophore Modeling to Study the Interactions of Chalcone Derivatives with Estrogen Receptor Alpha*. 1–12. doi.org/10.3390/ph10040081
21. Prasetiawati, R., Zamri, A., Barliana, M. I., & Muchtaridi, M. In silico predictive for modification of chalcone with pyrazole derivatives as a novel therapeutic compound for targeted breast cancer treatment. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 9(2). 2019. 20–28p <https://doi.org/10.7324/JAPS.2019.90203>
22. Pp A, Skp IAI, Lawrenti H. Letrozole sebagai Terapi Lini Pertama Kanker Payudara Stadium Lokal Lanjut atau Metastatik Reseptor Hormon Positif. 2016;43(5):377-381p