

**STUDI *In Silico* DAN HUBUNGAN KUANTITATIF STRUKTUR-PROPERTI
(HKSP) SENYAWA TURUNAN PINOCEMBRIN SEBAGAI ANTIKANKER
PAYUDARA MELALUI HAMBATAN ENZIM AROMATASE**

Indra Sulistiono¹, Andri Tilaqza², Anita Puspa Widiyana³

Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang

Jl. Mayjen Haryono 139, Kota Malang

corresponding author: anitapuspaw@gmail.com

ABSTRAK

Pendahuluan: Penyebab utama terjadinya kanker payudara yaitu adanya peningkatan kadar estrogen yang dimediasi oleh aktivitas dari enzim aromatase. Enzim aromatase merupakan salah satu enzim yang termasuk kedalam enzim sitokrom p450 yang merangsang pembentukan estrogen melalui proses aromatisasi dengan mengubah androstenedion menjadi estron, testosterone menjadi estradiol dan androgen menjadi estrogen. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi dari senyawa turunan pinocembrin dalam menghambat aktivitas dari enzim aromatase.

Metode: Penelitian ini dilakukan dengan docking senyawa turunan pinocembrin dengan protein target yaitu aromatase inhibitor dengan menggunakan AutoDock Tools dan prediksi sifat fisikokimia, farmakokinetik serta toksisitas menggunakan ChemBio Draw dan ADMET Lab 2.0.

Hasil: Hasil docking molekul didapatkan bahwa semua senyawa turunan pinocembrin memiliki afinitas yang tinggi terhadap enzim aromatase, penambahan cincin aromatis serta substituen memberikan pengaruh terhadap afinitas senyawa turunan pinocembrin. Akan tetapi, pada pengujian HKSP yang dilakukan antara parameter fisikokimia dengan hasil docking molekul menunjukkan tidak adanya hubungan yang saling mempengaruhi antara kedua parameter tersebut.

Kesimpulan: Senyawa turunan pinocembrin (*Boesenbergia pandurata* Roxb) memiliki afinitas tinggi terhadap enzim aromatase sehingga berpotensi menghambat aktivitas dari enzim aromatase dalam sintesis estrogen.

Kata Kunci: Kanker Payudara; Enzim Aromatase; Docking molekul.

ABSTRACT

Introduction: The main cause of breast cancer is an increase in estrogen levels mediated by the activity of the aromatase enzyme. Aromatase enzyme is one of the enzymes included in the cytochrome p450 enzyme that stimulates the formation of estrogen through the aromatization process by converting androstenedione to estrone, testosterone to estradiol and androgen to estrogen. This research aims to determine the potential of pinocembrin derivative compounds in inhibiting the activity of the aromatase enzyme.

Methods: This study was conducted by docking pinocembrin-derived compounds with target proteins, namely aromatase inhibitors using AutoDock Tools and predicting physicochemical properties, pharmacokinetics and toxicity using ChemBio Draw and ADMET Lab 2.0.

Results: The results of molecular docking showed that all pinocembrin-derived compounds have high affinity for aromatase enzyme, the addition of aromatic ring and substituents affect the affinity of pinocembrin-derived compounds. However, the HKSP test conducted between physicochemical parameters and molecular docking results showed no mutual relationship between the two parameters.

Conclusion: Pinocembrin (*Boesenbergia pandurata* Roxb) derivative compounds have high affinity to aromatase enzyme, thus potentially inhibiting the activity of aromatase enzyme in estrogen synthesis.

Keywords: Breast Cancer; Aromatase Enzyme; Molecular Docking.

PENDAHULUAN

Penelitian GLOBOCAN 2020 dari *International Agency for Research on Cancer* dilakukan untuk mengetahui tingkat penyebaran dan kematian akibat kanker di seluruh dunia. Tingkat prevalensi kanker payudara pada wanita diperkirakan mencapai 2,3 juta kasus atau sebesar 11,7% dari semua kasus kanker yang ada diseluruh dunia (Hyuna *et al*, 2021). Kanker payudara di Indonesia menjadi urutan pertama dengan jumlah terbanyak yang mencapai 68.858 kasus (16,6%) dengan jumlah kematian mencapai lebih dari 22 ribu jiwa. Berdasarkan data tersebut kanker payudara menduduki peringkat tertinggi yang kemudian diikuti oleh kanker paru-paru sebesar 11,4%, kanker kolorektal sebesar 10,0%, kanker prostat sebesar 7,3%, dan kanker lambung 5,6% (Kemenkes, 2022).

Penyebab utama terjadinya kanker payudara yaitu adanya peningkatan kadar estrogen yang dimediasi oleh aktivitas dari enzim aromatase. Enzim aromatase merupakan salah satu enzim yang termasuk kedalam enzim sitokrom p450 yang merangsang pembentukan estrogen melalui proses aromatisasi dengan mengubah androstenedion menjadi estron, testosterone menjadi estradiol dan androgen menjadi estrogen. Estron merupakan jenis estrogen utama pada wanita pascamenopause dan estradiol pada wanita pramenopause. (Bulun *et al*, 2005). Oleh karena itu, pada wanita pascamenopause dengan kanker payudara hormon positif diberikan *aromatase inhibitor* (AI) untuk menghambat konversi androgen perifer menjadi estrogen (Burstein *et al*, 2018).

AI bekerja dengan mengikat dan memblokir aktivitas enzim aromatase dalam mensintesis estrogen dan mengurangi penyebaran hormon estrogen ke seluruh tubuh. Berdasarkan mekanisme kerjanya, AI yang dipasarkan dibagi menjadi dua kelas, yaitu penghambat steroid dan nonsteroid. AI steroid (exemestane) bekerja dengan mengikat enzim secara kovalen sehingga menyebabkan penghambatan ireversibel terhadap estrogen (estradiol dan estron) sedangkan AI non-steroid (anastrozole dan letrozol) adalah turunan yang mengandung nitrogen seperti imidazole dan triazol yang membentuk

interaksi non-kovalen dengan gugus heme enzim sehingga menghasilkan penghambatan reversible pada jaringan perifer (Smith *et al*, 2003). Akan tetapi, pengobatan dengan AI terdapat kekurangan gangguan kardiovaskular, penurunan kesehatan tulang sehingga memungkinkan terjadinya nyeri musculoskeletal maupun penurunan fungsi tulang sehingga dikembangkan metode pengobatan melalui bahan alam yang efektif terhadap kanker payudara (Yagata *et al.*, 2016).

Pinocembrin termasuk kedalam senyawa flavonoid aglikon yang telah terbukti memiliki aktivitas sebagai antioksidan, antiangiogenesis, antiinflamasi dan antikanker (Essa *et al*, 2012). Pinocembrin memiliki karakteristik sukar larut dalam air, tidak stabil jika terkena cahaya, mudah teroksidasi, absorpsi diusus rendah dan rasanya yang pahit (Soeka *et al*, 2007). Permasalahan yang ada pada pinocembrin dapat diperbaiki dengan melakukan modifikasi struktur dari pinocembrin. Penelitian yang berhubungan dengan struktur molekul obat yang sudah ada mulai dikembangkan sebagai tuntutan dalam menemukan calon senyawa obat baru yang lebih spesifik dan memiliki aktivitas farmakologis yang lebih poten. Struktur pinocembrin akan dimodifikasi dengan penambahan gugus aromatis sehingga mendapatkan sifat fisik dan kimia yang lebih baik serta aktivitas antikanker yang lebih optimal. Akan tetapi, dari 26 senyawa turunan pinocembrin hanya dipilih 10, karena hanya 10 senyawa tersebut yang menunjukkan peningkatan baik dari segi sifat fisikokimia maupun kemampuan ADMET terhadap aktivitas sebagai antikanker payudara (Siswandono *et al*, 2016).

Penelitian ini berfokus dalam memprediksi mekanisme pinocembrin sebagai antikanker payudara serta memprediksi tingkat keamanan pinocembrin jika dikonsumsi secara oral. Penelitian ini terdiri dari tiga tahapan yaitu tahap pertama *docking* molekul yang bertujuan untuk mengetahui afinitas ikatan pinocembrin menghambat protein enzim aromatase menggunakan *AutoDock Tools*. Tahap kedua memprediksi sifat fisikokimia, farmakokinetik dan toksisitasnya yang bertujuan untuk melihat keefektifan senyawa aktif jika dibuat sediaan

obat dalam rute oral menggunakan software *ADMETlab 2.0* (Hardjono, 2013).

METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah studi *in silico* dan HKSP. Studi *in silico* meliputi prediksi fisikokimia, parameter farmakokinetik dan toksisitas serta *docking* molekul. Penelitian ini dilakukan dengan *docking* senyawa turunan pinocembrin dengan protein target yaitu *aromatase inhibitor* dengan menggunakan *AutoDock Tools* dan prediksi sifat fisikokimia, farmakokinetik serta toksisitas menggunakan *ChemBio Draw* dan *ADMET Lab 2.0*.

Pembuatan Ligan

Ligan senyawa turunan pinocembrin didapatkan melalui menggambar struktur beserta masing-masing substituenya menggunakan *ChemBio Draw 2D* dan *3D*, lalu disimpan dalam format *.sdf* yang nantinya digunakan untuk prediksi sifat farmakokinetik dan toksisitas serta *.mol2* yang digunakan untuk proses *docking*.

Penentuan Sifat Fisikokimia

Sifat fisikokimia dari senyawa turunan pinocembrin menggunakan parameter elektronik (E_{HOMO} , E_{LUMO} dan E_{tot}), parameter lipofilik (Log P dan Log S) dan parameter sterik (berat molekul (BM) dan refraksi molar (RM)) melalui software *ChemBio Draw 3D* dan *ADMETLab 2.0*.

Sifat Farmakokinetik dan Toksisitas

Prediksi sifat farmakokinetik dan toksisitas meliputi parameter absorpsi (%HIA, Caco2), distribusi (Volume Distribusi, *Blood Brain Barrier*), metabolisme (CYP2D6 dan CYP3A4 *inhibitor*), ekskresi (CL_{tot}) dan toksisitas (hepatotoksik) menggunakan file ligan dalam format *.sdf* melalui website online *ADMETlab* (<https://admetmesh.scbdd.com/>).

Penentuan Validasi Docking Molekul

Validasi *docking* menggunakan protein reseptor dan *native ligand* yang sebelumnya sudah dilakukan *merge nonpolar* dan ditambahkan muatan melalui *Compute Gasteiger* kemudian dibuat dalam format *.gpf* dan *.dpf*. Setelah pembuatan file dalam format *.gpf* dan *.dpf* maka dilakukan pembuatan grid box untuk *native ligand* dengan klik *center on ligand* dan dicatat *number of point x,y dan z*.

Tabel 1 Grid Box

Nx	32
Ny	36
Nz	20
Cx	85.232
Cy	50.397
Cz	40.701

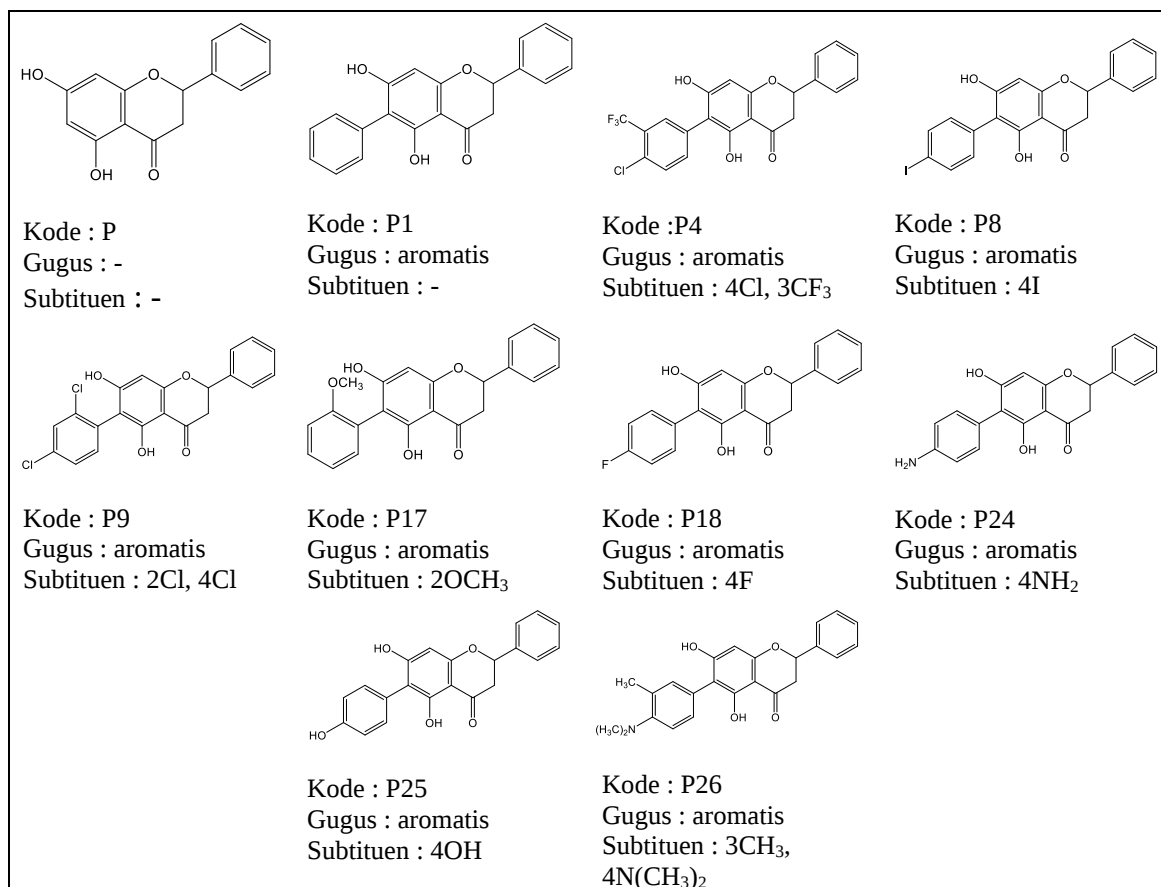
Penentuan Docking Molekul

Proses *docking* harus terlebih dahulu mengubah *ligand types*, *mapping*, *move*, *about* didalam file format *.dpf* dan *ligand types*, *mapping* didalam file format *.gpf* dimana disesuaikan dengan *native ligand* yang digunakan. Setelah itu, untuk mengetahui nilai ΔG dan K_i dengan klik *play rank by energi*, sedangkan untuk visualisasi residu asam amino menggunakan software *Biovia Discovery Studio*.

Penentuan HKSP

Tahapan dari HKSP menggunakan aplikasi IBM SPSS dengan menyiapkan data hasil prediksi sifat fisikokimia (lipofilik, sterik, elektronik) sebagai parameter x dan parameter *docking* molekul (ΔG , K_i , residu asam amino) sebagai parameter y. Setelah itu, dibuka aplikasi *IBM SPSS*, dimasukkan semua data yang digunakan kedalam SPSS.

HASIL DAN ANALISA DATA



Gambar 1. Struktur kimia senyawa induk pinocembrin (P) beserta turunannya dengan penambahan gugus aromatis beserta masing-masing substituenya.

Hasil Druglikeness

Tabel 2. Hasil Penentuan *Druglikeness* Senyawa Turunan Pinocembrin (*Boesenbergia pandurata* Roxb) Menggunakan Website ADMETLab 2.0.

No	Kode	BM	Log P	HBD	HBA
1	P	256.07	2.956	2	4
2	P1	332.1	4.61	2	4
3	P4	362.12	4.489	2	5
4	P8	347.12	3.993	4	5
5	P9	348.1	4.277	3	5
6	P17	362.12	4.489	2	5
7	P18	350.1	4.778	2	4
8	P24	347.12	3.993	4	5
9	P25	348.1	4.277	3	5
10	P26	389.16	5.37	2	5

Keterangan : Data diatas menunjukkan hasil penentuan druglikeness menggunakan aturan 5 Lipinski yang terdiri dari Berat Molekul (BM), Logaritma partisi oktanol/air (Log P), ikatan hidrogen akseptor (HBA) dan Ikatan Hidrogen Donor (HBD).

Hasil prediksi *druglikeness* atau kemiripan obat dari senyawa turunan pinocembrin menggunakan aturan 5 Lipinski yang menyatakan bahwa suatu senyawa setidaknya harus memenuhi 2 dari 4 aturan Lipinski. Data yang disajikan pada **Tabel 2** menunjukkan bahwa masing-masing substituen yang ditambahkan sangat berpengaruh pada

Prediksi Sifat Fisikokimia

Hasil prediksi sifat fisikokimia menunjukkan karakteristik serta kemampuan dari senyawa turunan pinocembrin dalam menembus sawar darah otak. Pada **Tabel 3** dapat dilihat bahwa aspek yang paling dipengaruhi oleh masing-masing substituen yaitu pada nilai Log P, BM dan MR. Nilai Log P pada senyawa induk pinocembrin cenderung lebih bersifat polar dibandingkan turunannya dengan nilai yang paling rendah sebesar 2.956. Nilai MR yang dihasilkan dari

Tabel 3. Hasil Prediksi Sifat Fisikokimia Senyawa Turunan Pinocembrin (*Boesenbergia pandurata* Roxb).

No	Kode	Lipofilik		Elektronik			Sterik	
		Log P	Log S	E _{HOMO}	E _{LUMO}	E _{tot}	BM	MR
1	P	2.956	-3.768	-11.033	-3.100	33.1419	256.07	72.83
2	P1	4.61	-4.058	-11.014	-3.453	71.2269	332.1	98.26
3	P4	5.903	-4.479	-10.979	-3.456	76.1928	434.05	108.28
4	P8	5.657	-4.084	-9.953	-3.456	72.5008	458.0	110.98
5	P9	5.884	-4.715	-10.888	-3.442	67.762	400.03	108.28
6	P17	4.489	-4.565	-11.171	-3.461	83.808	362.12	104.76
7	P18	4.778	-4.103	-11.177	-3.458	69.8646	350.1	98.22
8	P24	3.993	-3.956	-10.740	-3.455	62.1794	347.12	102.67
9	P25	4.277	-4.01	-11.165	-3.455	61.6269	348.1	100.29
10	P26	5.37	-3.787	-7.359	-3.096	80.222	389.16	117.44

Keterangan : Log P (Logaritma partisi oktanol/air), Log S (Logaritma kelarutan dalam air), E_{HOMO} (Energi *Highest Unoccupied Molecular Orbital*), E_{LUMO} (Energi *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*), E_{tot} (Energi total), BM (Berat Molekul), MR (*Molar Refractivity*).

Prediksi Sifat Farmakokinetik

Hasil prediksi sifat farmakokinetik meliputi ADME dan toksisitas akan menggambarkan bagaimana kemampuan dan keamanan dari senyawa tersebut apabila dikonsumsi secara oral. Pada **Tabel 4** dapat

kepolaran dari senyawa tersebut yang menyebabkan senyawa senyawa yang mendapatkan penambahan substituen lebih bersifat nonpolar dibandingkan dengan senyawa induk pinocembrin (Lipinski, 2004).

turunan pinocembrin lebih besar dibandingkan senyawa induknya dimana nilai MR ini nantinya akan menggambarkan sifat sterik senyawa tersebut berupa interaksi yang terjadi antara masing-masing senyawa dengan reseptor, apabila semakin besar nilai yang dihasilkan maka interaksi yang terjadi antara senyawa dengan reseptor kurang baik (Gyebi *et al.*, 2021).

dilihat bahwa semua senyawa aman tidak bersifat hepatotoksik, namun beberapa senyawa juga terlihat dimetabolisme pada CYP3A4 *inhibitor* yang artinya senyawa tersebut nantinya berpotensi tertahan pada hepar sehingga memungkinkan terjadinya

toksik. Akan tetapi, pada parameter lainnya tidak terjadi perubahan signifikan antara senyawa induk pinocembrin dengan turunannya, yang artinya dari profil ADME dan toksisitas yang didapatkan masih tergolong aman apabila dikonsumsi secara oral.

Tabel 4. Hasil Prediksi Sifat Farmakokinetik (ADME) dan Toksisitas Senyawa Turunan Pinocembrin (*Boesenbergia Pandurata* Roxb).

No	Kode	Absorpsi		Distribusi		Metabolisme		Ekskresi	Toksisitas
		%HIA	Caco2	BBB	VDss	CYP2D6 inhibitor	CYP3A4 inhibitor		
1	P	90.892	1.286	0.197	-0.133	Tidak	Tidak	0.136	Tidak
2	P1	91.313	1.212	-0.119	-0.795	Tidak	Tidak	0.065	Tidak
3	P4	92.414	0.959	0.023	-1.311	Tidak	Tidak	0.177	Tidak
4	P8	82.889	0.381	-0.801	-1.094	Tidak	Ya	0.082	Tidak
5	P9	88.595	0.998	-0.926	-1.168	Tidak	Ya	0.024	Tidak
6	P17	92.414	0.959	0.023	-1.311	Tidak	Tidak	0.177	Tidak
7	P18	90.775	1.161	-0.096	-0.971	Tidak	Tidak	-0.044	Tidak
8	P24	82.889	0.381	-0.801	-1.094	Tidak	Ya	0.082	Tidak
9	P25	88.595	0.998	-0.926	-1.168	Tidak	Ya	0.024	Tidak
10	P26	93.257	1.002	0.115	-0.803	Tidak	Ya	0.275	Tidak

Keterangan : Data diatas menunjukkan hasil prediksi sifat farmakokinetik dengan menggunakan parameter *Human Intestinal Absorption* (HIA), permeabilitas *Caco2* (Caco2), *Blood Brain Barrier* (BBB), *Volume Distribusi at Steady State* (VDss), *CYP2D6 inhibitor*, *CYP3A4 inhibitor*, *Klirens total* (Cl_{tot}) dan *Hepatotoksisitas*.

Docking Molekul

Hasil *docking* molekul terhadap protein aromatase *inhibitor* dengan kode PDB 3EQM menggambarkan afinitas yang dihasilkan dari senyawa turunan pinocembrin. Pada **Tabel 5** menunjukkan bahwa semua senyawa memiliki nilai energi ikatan bebas dan konstanta inhibisi kecil yang artinya senyawa dapat dengan mudah berinteraksi dengan

protein target dan tidak berpotensi menghambat aktivitas dari protein target (Arrasyid *et al.*, 2018).

Residu asam amino menggambarkan posisi ligan saat berinteraksi dengan reseptor apabila semakin banyak residu asam amino makai katan yang terjadi akan semakin kuat dan stabil (Mubarika *et al.*, 2020).

Tabel 5. Hasil Docking Molekul Senyawa Turunan Pinocembrin (*Boesenbergia pandurata* Roxb) terhadap Enzim Aromatase.

No	Kode	Energi ikatan bebas (Kcal/Mol)	Konstanta inhibisi (μ M)	Residu Asam Amino
1.	P	-8.80	355.31 μ M	Val 370, Met 374, Arg 115, Phe 134, Trp 224, Ala 306
2.	P1	-8.97	266.46 μ M	Val 370, Met 374, Arg 115, Phe 134, Trp 224, Ala 306
3	P4	-8.80	351.55 μ M	Val 370, Met 374, Arg 115, Phe 134, Trp 224, Ala 306
4	P8	-9.18	185.53 μ M	Val 370, Met 374, Arg 115, Phe 134, Trp 224, Ala 306
5	P9	-12.05	1.47 nM	Val 370, Met 374, Arg 115, Phe 134, Trp 224, Ala 306
6	P17	-8.71	413.56 μ M	Val 370, Met 374, Arg 115, Phe 134, Trp 224, Ala 306
7	P18	-7.17	5.54 nM	Val 370, Met 374, Arg 115, Phe 134, Trp 224, Ala 306
8	P24	-9.23	170.54 μ M	Val 370, Met 374, Arg 115, Phe 134, Trp 224, Ala 306
9	P25	-9.63	87.45 μ M	Val 370, Met 374, Arg 115, Phe 134, Trp 224, Ala 306
10	P26	-7.31	4.38 nM	Val 370, Met 374, Arg 115, Phe 134, Trp 224, Ala 306

Keterangan : Hasil diatas menunjukkan docking molekul terhadap protein target enzim aromatase yang menggunakan parameter Energi Ikatan Bebas (Δ G), Konstanta inhibisi (Ki) dan Residu Asam Amino.

HKSP

Hasil penentuan hubungan kuantitatif struktur-properti (HKSP) senyawa turunan pinocembrin dengan menghubungkan antara variabel bebas berupa parameter sifat

fisikokimia dengan variabel terikat docking molekul yang memiliki sebanyak 63 persamaan regresi dan terpilih persamaan terbaik yang dapat dilihat pada **Tabel 6**.

Tabel 6. Hasil HKSP antara Parameter Sifat Fisikokimia dengan Docking Molekul menggunakan Analisis Regresi Linier Berganda.

No	Variabel Bebas	Parameter HKSP				Persamaan Regresi ($y = bx + a$)
		R	R2	F	Sig	
1.	Log S + E_{LUMO} + E_{tot}	0.526	0.277	2.931	0.055	$\Delta G = 1.635 \text{ Log S} + 2.846 E_{LUMO} + 0.039 E_{tot} + 4.966$

Keterangan : HKSP antara parameter sifat fisikokimia Log S (Logaritma kelarutan dalam air), E_{LUMO} (Energi Lowest Unoccupied Molecular Orbital), E_{tot} (Energi total) dengan hasil docking molekul dengan parameter yang digunakan yaitu Δ G (Energi Ikatan Bebas).

PEMBAHASAN

Analisa *Druglikeness*

Berdasarkan hasil prediksi sifat kemiripan obat atau *druglikeness* dari senyawa induk pinocembrin beserta turunannya bahwa semuanya memenuhi aturan Lipinski. Hal ini dikarenakan pernyataan Lipinski bahwa nilai $BM < 500$ Da, $\log P < 5$, $HBD < 5$, dan $HBA < 10$. Senyawa induk pinocembrin memenuhi empat kriteria aturan Lipinski, sedangkan senyawa turunan pinocembrin hanya memenuhi 3 kriteria dan ada juga beberapa senyawa yang memenuhi empat kriteria aturan Lipinski. Beberapa senyawa tidak memenuhi kriteria $\log P$ dimana nilai yang dihasilkan > 5 yang artinya senyawa-senyawa tersebut bersifat non polar (Lipinski, 2004). Hal ini dapat disebabkan oleh kemampuan substituen yang ditambahkan pada masing-masing senyawa dalam merubah karakteristik senyawa tersebut. Sehingga dapat disimpulkan bahwa tidak semua senyawa turunan pinocembrin mempunyai bioavailabilitas yang baik sehingga hanya beberapa senyawa saja yang dapat dikonsumsi secara oral.

Prediksi Sifat Fisikokimia

Prediksi sifat fisikokimia senyawa turunan pinocembrin menggunakan parameter berupa $\log P$, $\log S$, E_{HOMO} , E_{LUMO} , E_{tot} , BM dan MR . Parameter lipofilik yang digunakan yaitu nilai $\log P$ dan $\log S$. Nilai $\log P$ atau sering disebut dengan koefisien partisi menunjukkan kemampuan kelarutan senyawa dalam lemak. Semakin besar nilai $\log P$ maka senyawa tersebut bersifat nonpolar. Nilai $\log S$ menunjukkan kemampuan kelarutan senyawa didalam air dan merupakan kebalikan dari nilai $\log P$. Hasil prediksi sifat fisikokimia menunjukkan nilai $\log P$ yang dihasilkan tinggi dan nilai $\log S$ termasuk dalam kategori rendah. Hal ini menunjukkan bahwa sebagian besar senyawa turunan pinocembrin cenderung bersifat nonpolar (Hoelz, 2010).

Parameter selanjutnya yang digunakan yaitu E_{HOMO} , E_{LUMO} , E_{tot} dimana ketiga parameter tersebut merupakan deskriptor elektronik yang menggambarkan kestabilan serta reaktivitas molekul sebagai penarik maupun pendorong elektron dan juga interaksi elektronik antaratom yang terbentuk dalam suatu molekul nantinya akan sangat berpengaruh terhadap aktivitasnya (Hadanu 2018). E_{HOMO} merupakan puncak energi tertinggi orbital molekul yang dihuni oleh elektron sedangkan E_{LUMO} merupakan energi orbital molekul paling rendah yang tidak

ditempati oleh elektron. Nilai E_{LUMO} nantinya akan menggambarkan hubungan antara afinitas elektron dengan sifat kerentanan molekul. Apabila selisih antara E_{HOMO} dan E_{LUMO} semakin tinggi, maka stabilitas suatu senyawa juga semakin tinggi.

Parameter sterik yang digunakan yaitu berat molekul dan *molar refractivity*. Berat molekul adalah parameter yang menunjukkan kemampuan senyawa turunan pinocembrin dalam melewati membrane sel. Berat molekul yang dihasilkan oleh senyawa turunan pinocembrin memenuhi kriteria Lipinski yang mengharuskan $BM \leq 500$ Da (Caron et al., 2018). Nilai *molar refractivity* menunjukkan hubungan refraktivitas pada proses interaksi antara molekul obat dengan reseptor (Bărbulescu et al., 2021).

Prediksi Sifat Farmakokinetik

Presentase hasil parameter HIA senyawa aktif pinocembrin beserta turunannya yaitu 80-90% dan parameter Caco2 memiliki nilai diatas 0,9. Hal ini menyatakan bahwa suatu senyawa yang dapat diabsorpsi dengan baik apabila memiliki nilai HIA diatas 30% dan permeabilitas Caco2 diatas 0,9. Hasil prediksi sifat farmakokinetik senyawa turunan pinocembrin memiliki kemampuan absorpsi yang baik serta dapat melewati seleksi dari Caco2 sel monolayer sehingga apabila senyawa tersebut dikonsumsi maka akan bertahan pada sirkulasi darah dan siap untuk terdistribusi ke seluruh tubuh.

Nilai VD_{ss} dikatakan tinggi apabila $> 0,45$ dan rendah apabila $< -0,15$. Senyawa aktif pinocembrin beserta turunannya memiliki nilai VD_{ss} rendah yaitu $< -0,15$ yang artinya hanya beberapa senyawa saja yang memiliki potensi terdistribusi dengan baik. Kemudian parameter BBB menunjukkan kemampuan senyawa dalam menembus sawar darah otak. Nilai BBB senyawa yang dapat menembus sawar otak yaitu $> 0,3$ dan tidak dapat menembus apabila $BBB < -1$. Pada penelitian ini senyawa aktif pinocembrin beserta turunannya memiliki nilai $BBB > -1$ dan terdapat satu senyawa dengan nilai $BBB < -1$ yang artinya senyawa ini paling tidak berpotensi menembus sawar otak dengan nilai -1,232 sehingga dapat disimpulkan bahwa senyawa aktif pinocembrin beserta turunannya memiliki konsentrasi dalam sirkulasi darah yang kurang stabil dan memiliki potensi yang rendah dalam menembus sawar otak (Pires, 2015).

Profil selanjutnya yaitu metabolisme yang menggunakan parameter CYP2D6 dan CYP3A4 *inhibitor*. Hasil penelitian menunjukkan semua senyawa turunan pinocembrin tidak ditemukan CYP2D6 *inhibitor*. Akan tetapi, beberapa senyawa turunan pinocembrin ditemukan pada CYP3A4 *inhibitor* sehingga beberapa senyawa tersebut memiliki potensi tidak mengalami proses inaktivasi di hepar yang nantinya akan mengakibatkan terjadinya toksik (Pires, 2015).

Hasil penelitian menunjukan bahwa sebagian besar senyawa turunan pinocembrin memiliki rata-rata diatas -0,87. Sehingga dari data tersebut dapat disimpulkan senyawa turunan pinocembrin memiliki nilai Cl_{tot} yang sangat baik dan dapat diekresikan secara normal (Sun *et al.* 2019; Pires, 2015).

Profil terakhir yang digunakan yaitu toksisitas dengan parameter hepatotoksik. Hepatotoksik akan menunjukkan apakah senyawa aktif memiliki potensi menyebabkan toksik pada hepar atau tidak. Data hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa senyawa turunan pinocembrin tidak mengakibatkan terjadinya hepatotoksik dan sangat aman untuk dikonsumsi. Hasil dari pengujian farmakokinetik yang dilakukan terhadap senyawa pinocembrin beserta turunannya dapat disimpulkan bahwa beberapa senyawa memiliki profil yang kurang baik dan berpotensi menimbulkan toksik, sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut terutama seara *in vivo* untuk memastikan apakah senyawa pinocembrin beserta turunannya aman apabila diberikan secara oral.

Docking Molekul

Hasil *docking* molekul didapatkan bahwa dari 26 senyawa turunan pinocembrin hanya 10 senyawa yang memiliki afinitas tinggi dan paling berpotensi dalam menghambat aktivitas dari enzim aromatase. Penambahan cincin aromatis serta substituen memberikan pengaruh terhadap afinitas senyawa turunan pinocembrin. Senyawa dengan kode P9 merupakan senyawa yang memiliki afinitas paling tinggi dengan nama IUPAC 6-(2,4-dichlorophenyl)-5,7-dihydroxy-2-phenylchroman-4-one dengan nilai ΔG paling kecil yaitu -12.05, K_i paling kecil yaitu 1.47 nM dan persentase persamaan residu asam amino 100% dengan senyawa pinocembrin. Senyawa P9 mendapatkan

penambahan 2 substituen berupa Cl pada cincin aromatis dimana hal inilah yang menyebabkan senyawa ini memiliki afinitas terbaik dibandingkan senyawa lainnya.

HKSP

Pengujian HKSP menggunakan analisa statistik regresi linear berganda dengan variabel bebas berupa parameter sifat fisikokimia yaitu Log P, Log S, E_{HOMO} , E_{LUMO} , E_{tot} , BM dan MR serta variabel terikat berupa parameter *docking* yaitu ΔG dan K_i . Hasil yang ditampilkan pada **Tabel 6** merupakan model HKSP yang terpilih yang memiliki nilai mendekati kriteria yaitu nilai r mendekati 1, R^2 mendekati 100%, nilai $F_{hitung} > F_{tabel}$ dan $.sig < 0,05$. Persamaan HKSP yang terbentuk sebanyak 63 yang terdiri dari 1 persamaan, 2 persamaan dan 3 persamaan. Setiap persamaan yang terbentuk menghubungkan antara parameter sifat fisikokimia dengan prediksi aktivitas yaitu ΔG (Shanmukha *et al.*, 2020; Toropov, 2020).

Persamaan yang terpilih memiliki nilai yang paling mendekati kriteria, meskipun tidak sepenuhnya memenuhi kriteria yang sudah ditetapkan. Harga R^2 merupakan koefisien determinasi yang hanya sebesar 0,277 yang berarti 27,7% hubungan yang terbentuk antara ΔG dengan parameter fisikokimia. Nilai F yang dihasilkan lebih kecil dibanding F tabel, hal ini menunjukkan bahwa hubungan yang terbentuk antara sifat fisikokimia dengan aktivitas terjadi karena adanya faktor kebetulan. Nilai signifikansi senyawa turunan pinocembrin yang dihasilkan sebesar $>0,05$ dimana hal ini menyatakan bahwa parameter fisikokimia dengan ΔG tidak memberikan pengaruh secara simultan. Oleh sebab itu, berdasarkan hasil penentuan HKSP tersebut dapat disimpulkan bahwa parameter fisikokimia tidak memberikan pengaruh secara simultan/signifikan terhadap aktivitas dalam menghambat enzim aromatase. Walaupun persamaan yang terbentuk bernilai positif yang artinya parameter fisikokimia memberikan pengaruh positif terhadap ΔG , akan tetapi nilai lainnya yang dihasilkan menunjukkan bahwa tidak adanya hubungan yang terjadi antara parameter fisikokimia dengan ΔG dalam menghambat enzim aromatase. (Ghozali, 2016).

KESIMPULAN

Jadi, dapat disimpulkan bahwa senyawa dengan kode P9 merupakan senyawa yang memiliki afinitas paling tinggi dengan nama IUPAC 6-(2,4-dichlorophenyl)-5,7-dihydroxy-2-phenylchroman-4-one dengan nilai ΔG paling kecil yaitu -12.05, K_i paling kecil yaitu 1.47 nM dan persentase persamaan residu asam amino 100% dengan begitu senyawa inilah yang memiliki kemungkinan paling berpotensi dalam menghambat aktivitas dari enzim aromatase. Selain itu, senyawa turunan pinocembrin lainnya juga memiliki nilai ADME dan toksisitas baik, sehingga aman apabila dikonsumsi secara oral.

DAFTAR PUSTAKA

- Hyuna, S; J. Ferlay, L. Rebecca, M. Laversanne. 2021. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *Ca Cancer J Clin.* 71 209–249.
- Kemenkes, R.I. 2022. Data kanker di Indonesia. Kementrian Kesehatan. Indonesia.
- Bulun, S.E. 2005. Regulation of aromatase expression in breast cancer tissue. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1155 121–131.
- Smith, I.E; and M. Dowsett. 2003. *Aromatase inhibitors* in breast cancer. *N Engl J Med* 348 2431–2442.
- Yagata, H. H. Ohtsu, Y. Komoike, S. Saji, H. Takei, T. Nakamura. 2016. Joint symptoms and health-related quality of life in postmenopausal women with breast cancer who completed 5 years of anastrozole. *Supportive Care in Cancer* vol 24 issue 2.
- Lipinski, C.A; F. Lombardo, B.W. Dominy, and P.J. Feeney. 2001. Experimental And Computational Approaches to Estimate Solubility And Permeability In Drug Discovery And Development Settings. *Advance Drug Delivery Reviews*.
- Lipinski, C.A. 2004. Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. *Drug Discov Today Technol.* 1:337–41.
- Pires, D.E.V. Blundell, T.L. Ascher, D.B. 2015. pkCSM Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic and Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures, *Journal of Medicinal Chemistry*, 58, pp.4066–4072.

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian disarankan untuk melakukan penelitian lanjutan secara *in vivo* maupun *in vitro* dalam menunjang keberhasilan dan kebenaran potensi senyawa aktif turunan pinocembrin sebagai antikanker payudara dengan mekanisme menghambat sintesis estrogen dengan memblokir aktivitas dari enzim aromatase.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Ikatan Orang tua Mahasiswa IOM dan FK UNISMA yang telah mendanai penelitian ini hingga selesai.

- Essa, M.M. R.K. Vijayan, G.G. Castellano, M.A. Memon, N. Braidy, G.J. Guillemin. 2012. Neuroprotective effect of natural products against Alzheimer's disease. *Neurochem Res.* 2012 Sep;37(9):1829-42. doi: 10.1007/s11064-012-0799-9.
- Siswandono. 2016. Kimia medisinal jilid dua. Edisi kedua. Universitas Airlangga. Surabaya. 183-215.
- L.V.B. Hoelz, Bruno A.C. Horta, Jocley Q. Araújo, Magaly G. Albuquerque, Ricardo Bicca de Alencastro, and Joaquim Fernando M. da Silva. 2010. Quantitative structure-activity relationships of antioxidant phenolic compounds. *J. Chem. Pharm. Res.* 2(5):291-306
- Hardjono, S. (2013) Sintesis dan uji aktivitas antikanker senyawa 1-(2-klorobenzoiloksi) urea dan 1-(4-klorobenzoiloksi) urea. *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*, 2 (1). pp. 16-20.
- Smith, I.E; and M. Dowsett. 2003. *Aromatase inhibitors* in breast cancer. *N Engl J Med* 348 2431–2442.
- Soeka, Y.S; E. Naiola, and S. Joko. 2007. Aktivitas antimikroba flavonoid-glikosida hasil sintesis secara transglukosilasi enzimatis. Pusat Penelitian Biologi-LIPI, Cibinong.
- Widiyana, A.P. 2021. Computation design of quinazoline-4(3H)-on derivatives as cyclooxygenase-2 (COX-2) *inhibitor*. *Jurnal Farmasi Sains Dan Praktis*.
- Ghozali, I. 2016. Aplikasi Analisis Multivariate dengan Program IBM SPSS 23. Edisi 8. Semarang: Badan Penerbit Universitas Diponegoro.

