

## UJI *IN SILICO* SENYAWA DAUN BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) SEBAGAI ANTIKANKER KOLOREKTAL SERTA PREDIKSI PROFIL FARMAKOKINETIK DAN TOKSISITAS

<sup>1</sup>Jayanti Putri Pratama\*, <sup>2</sup>Nurritzka Kurniawati, <sup>3</sup>Susanti Erikania

<sup>1,2,3</sup>Prodi S1 Farmasi, STIKES Bhakti Husada Mulia Madiun

<sup>1</sup>jyantipratama8@gmail.com, <sup>2</sup>nurritzka@gmail.com, <sup>3</sup>newerikania@gmail.com

### ABSTRAK

Kanker merupakan penyakit yang menjadi ancaman terhadap kesehatan manusia yang ditandai dengan proliferasi sel atau pembelahan sel yang tidak terkendali. Terapi perawatan kanker kolorektal menggunakan obat 5-Fluorouracil (5-FU) sebagai kontrol positif atau ligan standar perbandingan yang dapat membantu meningkatkan kelangsungan hidup pasien pada berbagai jenis kanker. Berdasarkan efek samping yang di timbulkan, hal ini kemudian mendorong masyarakat untuk beralih pengobatan ke bahan alam atau obat tradisional. Daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) merupakan salah satu jenis tanaman yang dikenal oleh masyarakat sebagai salah satu sumber pengobatan tradisional. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi senyawa kimia yang terkandung dalam daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) sebagai antikanker kolorektal dengan metode *in silico*, serta prediksi profil farmakokinetik (ADME) dan nilai toksisitas. Hasil penelitian ini adalah senyawa 7 (1,4-Dimethylnaphthalene) memiliki nilai  $\Delta G_{binding}$  paling rendah terhadap 3 protein yaitu Chk1:-6,2 (Kkal/mol), Cyclin A:-3,6 (Kkal/mol), Apoptosis Regulator Bcl-2:-6,2 (Kkal/mol). Prediksi profil farmakokinetik dengan hasil yaitu senyawa 3 (1,4-Diethylbenzene) yang memenuhi parameter ADME. Prediksi toksisitas menunjukkan 6 senyawa uji termasuk dalam kategori 1 yaitu toksisitas rendah (Low Class), dan 13 senyawa memiliki hasil negatif terhadap genotoksik maupun nongenotoksik karsinogen sehingga tidak bersifat karsinogenik.

**Kata Kunci :** Kanker Kolorektal<sup>1</sup>, Daun Belimbing Wuluh<sup>2</sup>, *In silico*<sup>3</sup>, Farmakokinetik<sup>4</sup>, Toksisitas<sup>5</sup>

### ABSTRACT

Cancer is a disease that poses a threat to human health characterized by cell proliferation or uncontrolled cell division. Colorectal cancer treatment therapy uses the drug 5-Fluorouracil (5-FU) as a positive control or comparison standard ligand that can help improve patient survival in various types of cancer. Based on the side effects caused, this then encourages people to switch treatment to natural ingredients or traditional medicine. Star fruit leaves (*Averrhoa bilimbi* L) is one type of plant known by the community as a source of traditional medicine. This study aims to determine the potential of chemical compounds contained in star fruit leaves (*Averrhoa bilimbi* L) as colorectal anticancer by *in silico* method, as well as prediction of pharmacokinetic profile (ADME) and toxicity value. The results of this study are compound 7 (1,4-Dimethylnaphthalene) has the lowest  $\Delta G_{binding}$  value against 3 proteins, namely Chk1:-6.2 (Kcal/mol), Cyclin A:-3.6 (Kcal/mol), Apoptosis Regulator Bcl-2:-6.2 (Kcal/mol). Prediction of pharmacokinetic profile with the result of compound 3 (1,4-Diethylbenzene) that meets ADME parameters. Toxicity prediction shows 6 test compounds are included in category 1, namely low toxicity (Low Class), and 13 compounds have negative results against genotoxic and nongenotoxic carcinogens so they are not carcinogenic.

**Keywords :** Colorectal Cancer<sup>1</sup>, Star Fruit Wuluh<sup>2</sup>, *In silico*<sup>3</sup>, Pharmacokinetics<sup>4</sup>, Toxicity<sup>5</sup>

### PENDAHULUAN

Kanker merupakan penyakit yang menjadi ancaman terhadap kesehatan manusia. Menurut American Cancer Society (2019) kanker adalah suatu penyakit yang ditandai dengan pertumbuhan dan penyebaran sel-sel abnormal yang tidak terkendali, jika hal ini terus terjadi dan tidak terkontrol maka akan menyebabkan kematian. Pertumbuhan dan penyebaran sel-sel abnormal yang terjadi pada sel penyusun kolon hingga ke bagian rektum disebut dengan kanker kolorektal.

Menurut data GLOBOCAN (*Global Cancer Statistics*) 2020 menunjukkan bahwa insidensi kasus kanker di Indonesia mencapai 396.914 kasus, kanker kolorektal menempati posisi ke-6 dengan persentase 4,4% dari total kasus baru yaitu sebesar 17.368 kasus baru dan 4,0% yaitu sebanyak 9.444 angka kematian. Kejadian ini dipengaruhi oleh faktor risiko kenaikan kanker kolorektal yaitu kebiasaan makan (*dietary history*) (Rahmadania, Wibowo and Rosida, 2015). Kebiasaan makan yang dimaksud adalah rendahnya pola konsumsi serat, serta tingginya pola konsumsi lemak dan protein yang berhubungan dengan kenaikan risiko terjadinya kanker kolorektal (Chen *et al.*, 2015).

Terapi perawatan kanker kolorektal meliputi radioterapi, kemoterapi dan pembedahan. Salah satu obat kemoterapi adalah 5-Fluorouracil (5-FU), obat ini di gunakan sebagai kontrol positif atau ligan standar pembanding yang dapat membantu meningkatkan kelangsungan hidup pasien dengan berbagai jenis kanker. Terapi 5-FU memiliki efek samping yang tidak hanya pada sel kanker saja namun dapat mengenai sel-sel yang sehat, efek samping yang ditimbulkan adalah pasien mengeluhkan mual, muntah, diare, stomatis, plamar-plantar erythrodysesthesia, dan leukopenia. Efek samping lainnya yaitu adanya resistensi 5-FU terhadap penderita kanker kolorektal, dimana dapat menurunkan efektivitas terapi (Basir *et al.*, 2014).

Berdasarkan efek samping yang di timbulkan, hal ini kemudian mendorong masyarakat untuk beralih pengobatan ke bahan alam atau obat tradisional (Maukar, Runtuwene and Pontoh, 2013). Daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) merupakan salah satu jenis tanaman yang dikenal oleh masyarakat sebagai salah satu sumber pengobatan tradisional. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstraksi dengan metode sokletasi dari buah dan daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) menghambat proliferasi sel kanker payudara MCF-7 dengan keterlibatan apoptosis atau kematian sel yang memiliki IC<sub>50</sub> dari daun sebesar 668 µg/ml-1 (Nair *et al.*, 2016).

Daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) yang akan di uji menggunakan metode *in silico* dengan ligan uji yang diperoleh dari hasil identifikasi senyawa isolat daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) N-Hex menggunakan GC/MS diperoleh 15 senyawa aktif (Hamzah, Amanah and Lau, 2021). Sedangkan reseptor yang digunakan berasal dari Bank Data Protein (*Protein Data Bank*) yang merupakan suatu data set visual yang menggambarkan berbagai molekul dimana membentuk struktur serta skema interkoneksi yang tentunya berbasis *online server* atau *web server*. Struktur protein yang terkait dalam patogenesis kanker kolorektal dari database Bank Data Protein (*Protein Data Bank*) yaitu *Chk1* (PDB ID:2R0U), *CyclinA* (PDB ID:6GUE) dan *Apoptosis Regulator Bcl-2* (PDB ID:4LXD) (Govindarasu *et al.*, 2021).

Pada penentuan dan pengembangan obat antikanker dimana metode yang digunakan berdasarkan pendekatan komputasi dikenal dengan terminologi *in silico* yang merupakan analog *in vivo* dan *in vitro* dimana mengkaji interaksi senyawa hipotetik dengan suatu reseptor dalam bentuk 2D atau 3D, serta prediksi aktivitas senyawa hipotetik dan berbagai senyawa yang menunjukkan aktivitas yang rendah dengan metode *molecular docking* (Suhud Farida, 2015; Istyastono E.P, 2015). Pengujian *in silico* dilakukan dengan bantuan *software AutodockTools*. Kontrol negatif yang digunakan adalah furosemid karena obat ini adalah obat antihipertensi golongan diuretik *loop* yang tidak memiliki indikasi antikanker kolorektal.

Profil farmakokinetik merupakan identifikasi untuk pengembangan dan penentuan kandidat obat oral yang harus memenuhi 5 kondisi atau *Rule of Five* dari Lipinski (Astuty and Komari, 2022). Analisis dari berbagai sifat obat yang dimiliki oleh struktur kimia dari suatu senyawa dapat diprediksi dengan *software* yang diakses secara *online* yaitu Pre-ADMET atau dapat disebut juga *SwissADME*. Uji toksisitas dilakukan untuk mempelajari pengaruh bahan kimia yang toksik ataupun tercemar oleh organisme tertentu. Prediksi toksisitas suatu senyawa dapat dilakukan dengan *software Toxtree*. Parameter yang digunakan dalam *Toxtree* adalah *Cramer Rules* dan *The Benigni/Bossa Rulebase* (Puspita, 2015). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hubungan antara senyawa isolat yang terkandung pada daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) dengan protein pada penyakit kanker kolorektal serta mengetahui profil farmakokinetik dan

tingkat toksisitas senyawa daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) sebagai antikanker kolorektal.

## METODE

**Alat** yang digunakan dalam penelitian ini adalah perangkat keras VivoBook\_ASUS laptop X415FAC\_A416FA dengan spesifikasi prosesor Intel<sup>®</sup> Core™ i3-10110U CPU @ 2.10GHz 2.50 GHz, RAM 4,00 GB (3,84 GB usable), *software* Microsoft Office Excel 2021, Puchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), *Protein Data Bank* (<https://www.rcsb.org/>), *MarvinSketch*, *VegaZZ*, *AutodockTools*, *AutodockVina*, *Discovery Studio*, *SwissADME*, *ToxTree*.

**Bahan** yang digunakan dalam penelitian ini adalah 15 ligan dari senyawa kimia daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) yaitu *Squalene*, *Phytol*, *1,4-Diethylbenzene*, *2-Methyl-3-hydroxypyran-4(4H)-one* (*Maltol*), *2-Methylnaphthalene*, *1-Methylnaphthalene*, *1,4-Dimethylnaphthalene*, *2,3-Dimethylnaphthalene*, *Octanoic Acid*, *3-Bromopentane*, *2-Bromo-1-nonene-3-nol*, *2-(1-Phenylethyl)-phenol*, *Hexadecanoic Acid*, *Oleic Acid*, dan makromolekul *Chk1* (PDB ID:2R0U), *CyclinA* (PDB ID:6GUE) dan *Apoptosis Regulator Bcl-2* (PDB ID:4LXD), serta pembanding yang digunakan yaitu kontrol positif *5-Fluorouracil* dan kontrol negatif *Furosemid* 10mg.

## Cara Kerja

### a. Pengunduhan dan Preparasi Makromolekul Kanker Kolorektal

Pengunduhan protein target dilakukan melalui *webservice Protein Bank Data* (PDB) yang dapat diakses di <https://www.rcsb.org/>. Struktur makromolekul yang digunakan adalah *Chk1* (PDB ID:2R0U), *CyclinA* (PDB ID:6GUE) dan *Apoptosis Regulator Bcl-2* (PDB ID:4LXD), sedangkan preparasi makromolekul dilakukan dengan bantuan *software AutodockTools*. Langkah pertama yaitu melakukan penghilangan kadar air yang ada pada molekul, kemudian memisahkan ligan dari protein, selanjutnya menambahkan *hydrogen* dan muatan parsial. Struktur makromolekul yang sudah didapatkan disimpan dalam bentuk PDBQT.

### b. Preparasi Ligan Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L)

Mencari struktur 2D dari senyawa kimia daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) sebagai ligan uji, melalui *webservice PubChem* yang dapat diakses di <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Langkah pertama yaitu menggambar struktur ligan dengan *MarvinSketch* berdasarkan SMILES dari setiap senyawanya. Selanjutnya dilakukan optimasi geometri struktur 3D dari ligan uji dengan *software Vegazz*, hasilnya disimpan dalam bentuk PDB yang akan digunakan untuk penambatan molekuler dengan format MOL untuk prediksi farmakokinetik dan toksisitas (Ferwadi *et al.*, 2017).

### c. Validasi Metode Penambatan Molekular

Proses validasi dilakukan dengan penambatan ulang ligan native ke protein targetnya, dimulai dengan menentukan *gridbox* ligan terhadap makromolekul. Selanjutnya proses analisa dengan *software AutodockTools*, kemudian dilihat nilai RMSD dengan perangkat lunak *PyMol*. Parameter yang digunakan dalam validasi penambatan molekular adalah nilai  $RMSD \leq 2,5 \text{ \AA}$  (Sari *et al.*, 2020)

### d. Analisa Hasil Penambatan Molekular

Proses penambatan dari 15 ligan uji terhadap 3 protein target dilakukan untuk menentukan posisi dan ukuran *gridbox* dari masing-masing protein target dengan *software PyRx*. Parameter yang akan diamati dalam proses *docking* (penambatan molekular) yaitu nilai energi ikatan ( $\Delta G_{binding}$ ). Semakin kecil nilai energi ikatan antara ligan dan reseptor maka semakin tinggi afinitasnya, begitu sebaliknya jika semakin besar nilai ikatan antara ligan dan reseptor maka semakin rendah pula afinitasnya.

### e. Visualisasi Senyawa Hasil Penambatan Molekular

Visualisasi senyawa hasil penambatan molekular dilakukan dengan *software Discovery Studio Visualizer*. Secara visual dilakukan dengan membandingkan residu asam amino dari ligan uji dengan residu asam amino dari makromolekul yang saling berinteraksi dan memiliki kemiripan.

**f. Prediksi Profil Farmakokinetik**

Prediksi profil farmakokinetik dilakukan menggunakan *webserver SwissADME* dengan memasukan SMILES senyawa yang akan diujikan. Parameter yang diamati yaitu absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi serta *drug-likeness (Lipinski's Rule of Five)*.

**g. Prediksi Toksisitas**

Prediksi toksisitas dilakukan dengan menggunakan *software Toxtree*. Parameter yang diamati yaitu *Cramer Rule* dan *The Benigni/Bossa Rulebase*.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian terhadap 15 senyawa kimia daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) yang didapatkan dari literatur dan pengunduhan melalui *website Pubchem* yang digunakan untuk mengetahui prediksi afinitas terhadap 3 protein target antikanker kolorektal secara *in silico* dengan metode penambatan molekular, serta melakukan prediksi profil farmakokinetik dengan *webserver SwissADME* dan profil toksisitas dengan *software Toxree*.

**a. Pengunduhan dan Preparasi Makromolekul Kanker Kolorektal**

Pengunduhan dan preparasi makromolekul dengan *webserver* Protein Data Bank (PDB). Terdapat kriteria pemilihan protein yaitu resolusi <2,5Å, karena semakin kecil nilai RMSD maka akan semakin tinggi ketelitiannya dengan hasil kristalisasi menggunakan metode sinar-X dan mempunyai nilai mutasi nol serta berasal dari spesies yang relevan (Reynaldi dan Setiawansyah, 2022). Hasil pengunduhan dan preparasi dari ketiga protein yaitu pertama protein *Checkpoint Kinase 1 (Chk1)* (PDB ID:2R0U) memiliki resolusi 1,90Å, kedua protein *Cyclin A* (PDB ID:6GUE) memiliki resolusi 1,99Å, dan ketiga protein *Apoptosis Regulator Bcl-2* (PDB ID:4LXD) memiliki resolusi 1.90Å. Ketiga protein berasal dari metode difraksi sinar-X, *non mutan* serta berasal dari spesies yang relevan yaitu *homo sapiens*. Adapun makromolekul yang memenuhi kriteria sebagai protein target dapat dilihat pada tabel 1 berikut:

Tabel 1. Hasil Makromolekul Target Terpilih

Makromolekul	PDB ID	Resolusi (Å)	Metode Difraksi	Spesies	Ligan	Chains
<i>Checkpoint Kinases 1</i>	2R0U	1.90	X-ray	Homo Sapien	M54	B [auth A]
<i>Cyclin A</i>	6GUE	1.99	X-ray	Homo Sapien	FB8	E [auth A] F [auth C]
<i>Apoptosis Regulator Bcl-2</i>	4LXD	1.90	X-ray	Homo Sapien	1XV	B [auth A]

Berdasarkan Tabel 1 tentang hasil makromolekul target terpilih menunjukkan bahwa makromolekul yang digunakan telah memenuhi persyaratan dan sesuai dengan kriteria yang tertera.

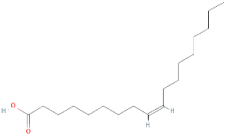
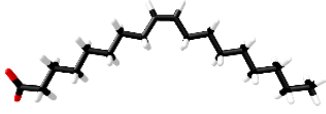
**b. Preparasi Ligan Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L)**

Sebanyak 15 senyawa aktif yang digunakan dari daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) sebagai ligan uji dengan mencari struktur 2D dari setiap ligan uji menggunakan *webserver Pubchem*, struktur ligan kemudian digambar dengan *MarvinSketch* berdasarkan SMILES dari setiap senyawa yang di peroleh dari *Pubchem*. Selanjutnya pengoptimasi geometri struktur 3D ligan uji menggunakan *software Vegazz*, optimasi geometri bertujuan untuk meminimalisasi energi agar struktur yang diperoleh paling stabil (Putri, Susanti and

Laksmiani, 2019). Hasil preparasi ligan uji berupa struktur 3D disimpan dalam format PDB yang digunakan sebagai uji *docking* dan dalam format MOL sebagai uji farmakokinetik dan toksisitasnya. Hasil preparasi ligan uji dapat dilihat pada tabel 2 berikut:

Tabel 2. Hasil pengunduhan Senyawa 2D dengan Webserver Pubchem dan Optimasi Geometri Struktur 3D dengan Perangkat LunakVegazz

No.	Ligan Uji	Struktur 2D	Struktur 3D
1.	Squalene		
2.	Phytol		
3.	1,4-Diethylbenzene		
4.	2-Methyl-3-hydroxypyran-4(4H)-one (Maltol)		
5.	Methylnaphthalene		
6.	1-Methylnaphthalene		
7.	1,4-Dimethylnaphthalene		
8.	2,3-Dimethylnaphthalene		
9.	Dihydroactinidiolide		
10.	Octanoic Acid		
11.	3-Bromopentane		
12.	2-Bromo-1-nonene-3-nol		
13.	2-(1-Phenylethyl)phenol		
14.	Hexadecanoic acid(Palmitic Acid)		

No.	Ligan Uji	Struktur 2D	Struktur 3D
15.	Oleic Acid		

### c. Validasi Metode Penambatan Molekular

Validasi metode penambatan makromolekul dilakukan pada setiap protein target yang digunakan pada studi penambatan molekular. Proses *docking molekuler* dilakukan dengan menggunakan aplikasi *Autodock Vina* dan *MGL Tools (Autodock Tools)*. Hasil uji *docking molekuler* senyawa daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) dapat dilihat pada tabel 3 berikut:

Tabel 3. Nilai RMSD pada Proses Docking

Replikasi	Nilai RMSD (Å) <i>Macromolecule Target</i>		
	2R0U	6GUE	4LXD
1	0,485	0,817	0,018
2	0,610	0,890	0,120
3	0,609	0,822	0,065
<b>Rata-rata</b>	<b>0,568</b>	<b>1,264</b>	<b>0,0676</b>

Pada tahapan ini parameter yang digunakan meliputi nilai RMSD (Å) dimana hasil *docking* dikatakan baik jika memiliki nilai RMSD yang kurang dari 2Å (Hernandez-Santoyo *et al.*, 2013). Hasil validasi metode penambatan makromolekul diperoleh hasil makromolekul target dan dilakukan replikasi 3 kali dengan nilai RMSD  $\leq 2\text{Å}$  yaitu *Checkpoint Kinase 1 (Chk1)* (PDB ID:2R0U) sebesar 0,568Å, *Cyclin A* (PDB ID:6GUE) sebesar 1,264Å, dan *Apoptosis Regulator Bcl-2* (PDB ID:4LXD) sebesar 0,067Å.

### d. Analisa Hasil Penambatan Molekular

Sebanyak 15 ligan dilakukan penambatan molekular terhadap tiga protein makromolekul target untuk mempelajari interaksi antara molekul dan nilai  $\Delta G_{binding}$ . Penambatan molekular dilakukan replikasi sebanyak 3 kali, dimana selanjutnya akan dicari nilai rata-rata dari ketiga replikasi tersebut dan menghitung nilai Standar Deviasi (SD). Hasil penambatan molekular yang berupa nilai  $\Delta G_{binding}$  dan nilai Standart Deviasi (SD) dapat dilihat pada tabel 4 berikut:

Tabel 4. Hasil Penambatan Molekular (Nilai rata-rata dan Standart Deviasi dari 3x replikasi) senyawa daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L)

Ligan	$\Delta G_{binding}$ (Kkal/mol)			SD
	Rata-rata			
	2R0U	6GUE	4LXD	
Kontrol Positif ( <i>5-Fluorouracil</i> )	-4,7	-3,5	-1,5	1,31
Kontrol Negatif ( <i>Furosemid 10mg</i> )	-5,8	-4,8	-1,8	1,69
Squalene	-7,1	-2,8	-0,9	2,59
Phytol	-6,0	-2,7	-1,2	2,00
1,4-Diethylbenzene	-5,8	-2,8	-1,8	1,69
2-Methyl-3-hydroxypyran-4(4H)-one (Maltol)	-4,2	-3,2	-1,6	1,07
2-Methylnaphthalene	-6,5	-3,3	-2,2	1,82
1-Methylnaphthalene	-6,4	-3,4	-2,2	1,76
1,4-Dimethylnaphthalene	-6,2	-3,6	-2,3	1,62
2,3-Dimethylnaphthalene	-6,1	-3,5	-2,3	1,58
Dihydroactinidiolide	-5,6	-3,7	-2,2	1,39
Octanoic Acid	-4,5	-2,9	-1,2	1,34
3-Bromopentane	-3,6	-1,9	-1,1	1,04
2-Bromo-1-nonene-3-nol	-4,8	-2,7	-1,5	1,26
2-(1-Phenylethyl)phenol	-6,8	-3,7	-2,1	1,95
Hexadecanoic acid (Palmitic Acid)	-5,4	-2,8	-1,1	1,76
Oleic Acid	-5,8	-2,2	-1,1	2,00

Senyawa dengan tanda kuning merupakan 3 senyawa dengan nilai  $\Delta G_{binding}$  terbaik, kemudian dibandingkan lagi dari ketiganya dan didapatkan hasil yaitu senyawa 7, senyawa 7 mempunyai nilai rata-rata  $\Delta G_{binding}$  paling kecil dari penambatan dengan ketiga protein, karena nilai suatu senyawa dikatakan kuat jika memiliki nilai yang kecil (negatif). Pada proses penambatan kontrol positif (*5-Fluorouracil/5-FU*) berperan sebagai agen kemotrapa utama dari kasus kanker kolorektal. 5-FU adalah analog dari urasil (DUMP) yang apabila masuk kedalam tubuh manusia akan dikonversikan kedalam 3 metabolit aktif seperti *fluorodeoxyuridine monophosphate* (FdUMP), *fluorodeoxyuridine triphosphate* (FdUTP) dan *fluorouridine triphosphate* (FUTP), yang mempunyai efek langsung terhadap antikanker melalui inhibisi dari *thymidylate synthase* (TS) dan kesalahan pada DNA dan juga RNA (Milone, 2012)

Senyawa 7 (*1,4-Dimethylnaphthalene*) adalah senyawa terbaik yang terdapat pada daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) dimana diharapkan mampu berperan sebagai agen antikanker kolorektal guna dikembangkan menjadi obat baru seperti kontrol positif (*5-Fluorouracil*) karena memiliki nilai  $\Delta G_{binding}$  yang lebih kecil dan kuat (negatif). Nilai  $\Delta G_{binding}$  yang terbentuk antara ligan dan protein target dipengaruhi oleh jumlah ikatan yang terbentuk, semakin banyak ikatan itu terbentuk maka nilai dari  $\Delta G_{binding}$  akan menunjukkan hasil yang negatif dan menandakan ikatan tersebut semakin kuat dan menciptakan ikatan yang lebih stabil. Menurut penelitian Syahputra et al., (2014) menyatakan bahwa semakin kecil (negatif) nilai  $\Delta G_{binding}$  yang dihasilkan maka akan semakin baik pula stabilitas ikatan antara reseptor dan ligan, sehingga ikatan yang terbentuk akan semakin kuat. Dari hasil yang dijelaskan diatas dapat disimpulkan bahwa senyawa dari daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) dapat digunakan sebagai calon obat baru dengan senyawa terbaik yang dapat digunakan adalah senyawa 7 (*1,4-Dimethylnaphthalene*).

**e. Visualisasi Senyawa Hasil Penambatan Molekular**

Visualisasi hasil penambatan molekular terhadap 3 target makromolekul digunakan untuk mengidentifikasi interaksi antara ligan uji dan target makromolekul. Analisis secara visual dilakukan dengan membandingkan antara residu asam amino pada ligan uji dengan residu asam amino pada makromolekul. Hasil analisis visualisasi penambatan molekular terhadap 3 taget makromolekul sebagai berikut:

1. Hasil Visualisasi Penambatan Molekular Terhadap Protein *Chk1* (PDB ID:2R0U)

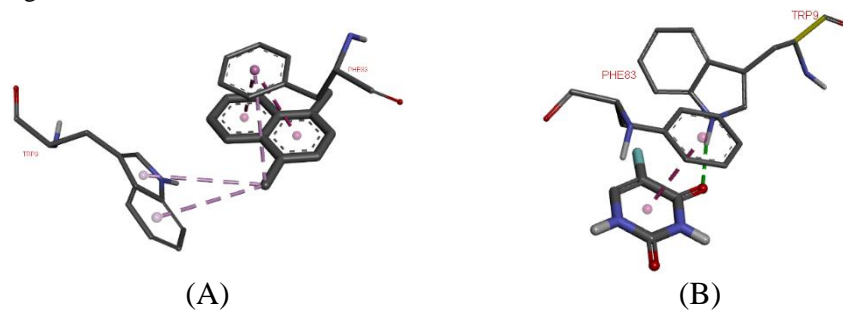
Tabel 5. Interaksi Asam Amino Ligan dengan Protein Chk1 (PDB ID:2R0U)

Senyawa	$\Delta G_{binding}$ (Kkal/mol)	Interaksi Residu Asam Amino	
		Interaksi Ikatan Hidrogen	Interaksi Non Ikatan Hidrogen
Kontrol Positif ( <i>5-Fluorouracil</i> )	-5,4	TRP9	PHE83
Squalene	-6,6	-	TRP9, PHE83, TYR71, TYR81, VAL35, VAL6
Phytol	-5,6	-	TRP9, PHE83, ARG74, VAL35, TYR71
1,4-Diethylbenzene	-4,7	-	TRP9, PHE83, ARG74, TYR71, VAL35
2-Methyl-3-hydroxypyran-4(4H)-one (Maltol)	-3,8	-	LEU84, VAL68, ALA36, VAL23, LYS38
2-Methylnaphthalene	-5,5	-	TRP9, PHE83, VAL35, TYR71
1-Methylnaphthalene	-5,4	-	TRP9, PHE83, ARG74
1,4-Dimethylnaphthalene	-5,7	-	TRP9, PHE83
2,3-Dimethylnaphthalene	-5,3	-	TYR71
Dihydroactinidiolide	-5,0	-	TRP9, PHE83, TYR71, VAL35
2-(1-Phenylethyl)phenol	-6,1	-	TRP9, PHE83, VAL35

Hexadecanoic acid (Palmitic Acid)	-5,0	-	ARG74, <b>PHE83</b> , <b>TRP9</b> , TYR71, VAL35
Oleic Acid	-5,2	-	ARG74, TYR81, <b>PHE83</b> , <b>TRP9</b> , TYR71, VAL35

Asam amino yang dicetak tebal memiliki kesamaan dengan kontrol positif. Senyawa dengan tanda kuning merupakan 3 senyawa dengan hasil penambatan molekular terbaik, dari ketiga senyawa tersebut kemudian dibandingkan lagi dan didapatkan hasil yaitu *1,4-Dimethylnaphthalene* karena residu asam amino yang berinteraksi memiliki kesamaan dengan residu asam amino kontrol positif serta tidak ada residu asam amino ikatan lainnya. *1,4-Dimethylnaphthalene* ini memiliki ikatan terbaik yaitu memiliki kesamaan dengan residu asam amino pada kontrol positif (*5-Fluorouracil*), meskipun interaksi persamaan yang terbentuk hanya pada ikatan non hidrogen saja dan tidak terjadi pada ikatan hidrogen, tetapi interaksi yang terbentuk menghasilkan residu asam amino PHE83 dan TRP9 saja tanpa ada residu asam amino ikatan lainnya seperti pada senyawa lainnya.

Nilai  $\Delta G_{binding}$  *1,4-Dimethylnaphthalene* (*1-4-Dimethylnaphthalene*) yaitu -5,7 (Kkal/mol), nilai  $\Delta G_{binding}$  ini lebih kecil dari pada kontrol positif (*5-Fluorouracil*). Menurut penelitian Syahputra *et al.*, 2014 menyatakan bahwa semakin kecil (negatif) nilai  $\Delta G_{binding}$  yang dihasilkan maka akan semakin baik pula stabilitas ikatan antara reseptor dan ligan, sehingga ikatan yang terbentuk akan semakin kuat. Hasil perbandingan visualisasi penambatan molekular dari senyawa 7 dengan kontrol positif (*5-Fluorouracil*) yang berikatan dengan protein *Checkpoint Kinase 1* (Chk1) (PDB ID:2R0U) dapat dilihat pada gambar 1. berikut:



Gambar 1. Interaksi 3D senyawa 7(A), dibandingkan dengan kontrol positif(B)

2. Hasil Visualisasi Penambatan Molekular Terhadap Protein *Cyclin A* (PDB ID:6GUE)

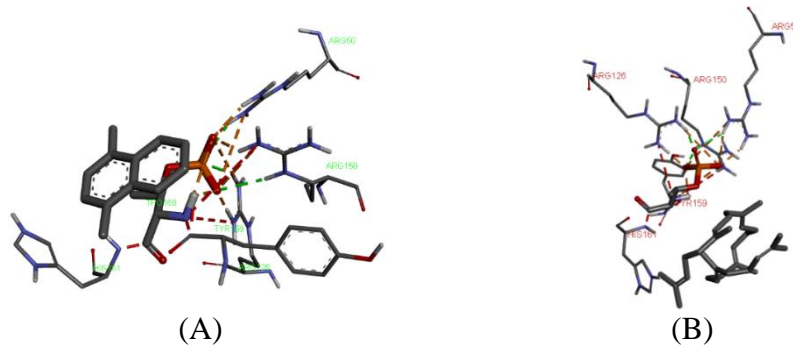
Tabel 6. Interaksi Asam Amino Ligan dengan Protein *Cyclin A* (PDB ID:6GUE)

Senyawa	$\Delta G_{binding}$ (Kkal/mol)	Interaksi Residu Asam Amino	
		Interaksi Ikatan Hidrogen	Interaksi Non Ikatan Hidrogen
Kontrol Positif ( <i>5-Fluorouracil</i> )	-5,4	ARG50, ARG126	ARG50, ARG126, ARG150, HIS161, TYR159
Squalene	-6,6	ARG50, ARG126	ARG50, ARG126, ARG150, HIS161, TYR159
Phytol	-5,6	ARG50, ARG126	ARG50, ARG126, ARG150, HIS161, TYR159
1,4-Diethylbenzene	-4,7	ARG50, ARG126	ARG50, ARG126, ARG150, HIS161, TYR159
2-Methyl-3-hydroxypyran-4(4H)-one (Maltol)	-3,8	ARG50, ARG126	ARG50, ARG126, ARG150, HIS161, TYR159
2-Methylnaphthalene	-5,5	ARG50, ARG126	ARG50, ARG126, ARG150, HIS161, TYR159
1-Methylnaphthalene	-5,4	ARG50, ARG126	ARG50, ARG126, ARG150, HIS161, TYR159



1,4-Dimethylnaphthalene	-5,7	<b>ARG50, ARG126</b>	<b>ARG50, ARG126, ARG150, HIS161, TYR159</b>
2,3-Dimethylnaphthalene	-5,3	<b>ARG50, ARG126</b>	<b>ARG50, ARG126, ARG150, HIS161, TYR159</b>
Dihydroactinidiolide	-5.0	<b>ARG50, ARG126</b>	<b>ARG50, ARG126, ARG150, HIS161, TYR159</b>

Asam amino yang dicetak tebal memiliki kesamaan dengan kontrol positif. Senyawa dengan tanda kuning merupakan 3 senyawa dengan hasil penambatan molekular terbaik, dari ketiga senyawa tersebut kemudian dibandingkan lagi dan didapatkan hasil yaitu senyawa 7 (*1-4-Dimethylnaphthalene*) karena residu asam amino yang berinteraksi memiliki kesamaan dengan residu asam amino kontrol positif serta memiliki nilai  $\Delta G_{binding}$  yang paling kecil (negatif). Pada Senyawa 7 (*1-4-Dimethylnaphthalene*) interaksi ikatan yang terbentuk terjadi pada kedua ikatan yaitu pada ikatan hidrogen dengan residu asam amino ARG50, ARG126 dan ikatan non hidrogen dengan residu asam amino yang berikatan yaitu ARG50, ARG126, ARG150, HIS161, TYR159. Interaksi ikatan yang terbentuk baik ikatan hidrogen dan non hidrogen memiliki kesamaan dengan ikatan yang terbentuk pada kontrol positif (*5-Fluorouracil*). Kemiripan suatu residu asam amino dari suatu senyawa dengan *native ligand* (kontrol positif) akan memiliki tingkat kemiripan pada sifatnya yang semakin tinggi (Pratama *et al.*, 2016). Hasil perbandingan visualisasi penambatan molekular dari senyawa 1 dengan kontrol positif (*5-Fluorouracil*) yang berikatan dengan protein *Cyclin A* (PDB ID:6GUE) dapat dilihat pada gambar 2. berikut:



Gambar 2. Interaksi 3D senyawa 7(A), dibandingkan dengan kontrol positif(B)

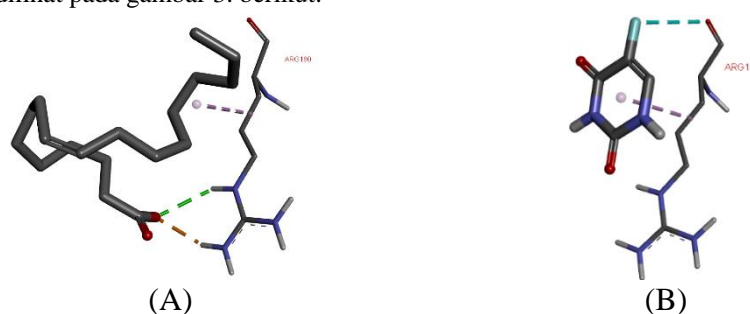
3. Hasil Visualisasi Penambatan Molekular Terhadap Protein *Apoptosis Regulator Bcl-2* (PDB ID:4LXD)

Tabel 7. Interaksi Asam Amino Ligan dengan Protein *Apoptosis Regulator Bcl-2* (PDB ID:4LXD)

Senyawa	$\Delta G_{binding}$ (Kkal/mol)	Interaksi Residu Asam Amino	
		Interaksi Ikatan Hidrogen	Interaksi Non Ikatan Hidrogen
Kontrol Positif ( <i>5-Fluorouracil</i> )	-5,4	-	<b>ARG180</b>
<b>Squalene</b>	<b>-6,6</b>	-	<b>ARG180</b>
1,4-Diethylbenzene	-4,7	-	<b>ARG180, HIS181</b>
2-Methyl-3-hydroxypyran-4(4H)-one (Maltol)	-3,8	-	<b>ARG180</b>
2-Methylnaphthalene	-5,5	-	<b>ARG180</b>
<b>1-Methylnaphthalene</b>	<b>-5,7</b>	-	<b>ARG180, HIS181</b>
1,4-Dimethylnaphthalene	-5,3	-	<b>ARG180</b>
2,3-Dimethylnaphthalene	-5.0	-	<b>ARG180, HIS181</b>
Octanoic Acid	-3,9	-	<b>ARG180</b>
2-(1-Phenylethyl)phenol	-6,1	<b>ARG180</b>	-

Hexadecanoic acid (Palmitic Acid)	-5,0	-	ARG180, HIS181
Oleic Acid	-5,2	ARG180	ARG180

Asam amino yang dicetak tebal memiliki kesamaan dengan kontrol positif. Senyawa dengan tanda kuning merupakan 3 senyawa dengan hasil penambatan molekular terbaik, dari ketiga senyawa tersebut kemudian dibandingkan lagi dan didapatkan hasil yaitu senyawa 15 karena residu asam amino yang berinteraksi memiliki kesamaan dengan residu asam amino kontrol positif. Residu asam amino tersebut adalah ARG180 yang berinteraksi di kedua ikatan baik ikatan hidrogen dan non hidrogen. Menurut Ramayanti et al., (2016) Interaksi yang terjadi pada asam amino dan ligan tidak hanya berwujud interaksi ikatan hidrogen saja, namun terdapat interaksi non kovalen/non hidrogen lainnya, akan tetapi ikatan hidrogen jauh lebih berpengaruh dibandingkan ikatan non hidrogen. Hasil perbandingan visualisasi penambatan molekular dari senyawa 15 dengan kontrol positif (5-Fluorouracil) yang berikatan dengan protein Apoptosis Regulator Bcl-2 (PDB ID:4LXD) dapat dilihat pada gambar 3. berikut:



Gambar 3. Interaksi senyawa 15(A), dibandingkan dengan kontrol positif(B)

#### f. Prediksi Profil Farmakokinetik

Prediksi profil farmakokinetik dilakukan dengan *webservice SwissADME* dengan parameter yang di ujikan meliputi absorpsi (*GI absorption* dan *P-gp substrate*), parameter distribusi (*BBB permeant*), parameter metabolisme (*CYP1A2 inhibitor*, *CYP2C19 inhibitor*, *CYP2C9 inhibitor*, *CYP2D6 inhibitor*, *CYP3A4 inhibitor* dan *bioavailability score*). Serta parameter ekskresi (*Log Kp/permeabilitas* kurang dari -2,5 cm/s) yang dapat dilihat pada table 8. Hasil parameter absorpsi melalui gastrointestinal (*GI absorption*) menunjukkan senyawa dengan kategori tinggi (*high*) yaitu *1,4-Diethylbenzene*, *2,3-Dimethylnaphthalene*, *Dihydroactinidiolide*, *3-Bromopentane*, *2-Bromo-1-nonene-3-nol*, *2-(1-Phenylethyl) phenol*, *Hexadecanoic Acid/Palmitic Acid* mampu menjalankan proses absorpsi pada organ intestinal (Niwa et al., 2018).

Parameter *P-glikoprotein (P-gp substrate)* mempunyai fungsi penting yaitu diekspresikan di dalam epitel usus bersama dengan proses metabolisme usus, yaitu sebagai penghalang biokimia dari mukosa usus, bertanggung jawab untuk membatasi ketersediaan hayati dari beberapa obat oral. Hasil uji *P-gp substrate* menunjukkan bahwa senyawa *Squalene* dan *Oleic Acid* tidak berpotensi sebagai *P-gp subtrat*, hal ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor antara lain seperti *log p*, amfifilitas, proton kebebsan dan luas permukaan aromatisitas. Sedangkan senyawa lainnya berpotensi sebagai *P-gp subtrat*. Menurut senyawa lainnya yang berpotensi sebagai *P-gp subtrat* maka berpotensi juga sebagai pengaktifan enzim atau protein.

Hasil prediksi parameter distribusi obat meliputi *BBB permeant (Brain Blood Barrier)* menunjukkan bahwa senyawa *Phytol*, *1,4-Diethylbenzene*, *2-Methyl-3-hydroxypyran-4-(4H)-one (Maltol)*, *2-Methylnaphthalene*, *1-Methylnaphthalene*, *1,4-Dimethylnaphthalene*, *2,3-Dimethylnaphthalene*, *Dihydroactinidiolide*, *Octanoic Acid*, *3-Bromopentane*, *2-Bromo-1-nonene-3-nol*, *2-(1-Phenylethyl) phenol* menunjukkan hasil "Yes" yang artinya senyawa tersebut dapat menembus sistem sawar darah otak, karena memiliki sifat lipofil (larut lemak) yang sama dengan sistem penyusun dari membran sawar darah otak. Senyawa yang baik untuk

terapi seharusnya yang tidak dapat menembus sawar darah otak karena dalam proses distribusi akan lebih baik, hal ini tidak akan mempengaruhi sistem saraf pusat pada otak sehingga dapat menuju jaringan target dan cenderung mudah diekskresikan. Blood Brain Barrier adalah lapisan difusi esensial penting dimana bertindak sebagai penghalang dari sistem syaraf pusat (SSP) (Pires and Santos, 2018).

Tabel 8. Nilai Parameter Farmakokinetik Senyawa Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) (<http://www.swissadme.ch/>)

Ligan	Absorbansi		Distribusi			Metabolisme				Eksresi
	GI absorption	P-Gp substrate	BBB permeant	CYP1A2 inhibitor	CYP2C19 inhibitor	CYP2C9 inhibitor	CYP2D6 inhibitor	CYP3A4 inhibitor	Bioavailability Score	Log Kp (cm/s)
Senyawa 1	Low	Yes	No	No	No	Yes	No	No	0.55	-2.29
Senyawa 2	Low	No	Yes	No	No	No	Yes	No	0.55	-3.87
Senyawa 3	High	No	Yes	No	No	No	No	No	0.55	-7.01
Senyawa 4	Low	No	Yes	Yes	Yes	No	No	No	0.55	-4.43
Senyawa 5	Low	No	Yes	Yes	Yes	No	No	No	0.55	-4.42
Senyawa 6	Low	No	Yes	Yes	Yes	No	No	No	0.55	-4.15
Senyawa 7	Low	No	Yes	Yes	Yes	No	No	No	0.55	-4.13
Senyawa 8	High	No	Yes	No	No	No	No	No	0.55	-5.87
Senyawa 9	High	No	Yes	No	No	No	No	No	0.85	-5.01
Senyawa 10	Low	No	Yes	No	No	No	No	No	0.55	-5.20
Senyawa 11	High	No	Yes	No	No	No	No	No	0.55	-5.11
Senyawa 12	High	No	Yes	Yes	No	No	Yes	No	0.55	-4.67
Senyawa 13	High	No	Yes	Yes	No	Yes	No	No	0.85	-2.77
Senyawa 14	High	No	No	Yes	No	Yes	No	No	0.85	-2.60
Senyawa 15	Low	Yes	No	No	No	Yes	No	No	0.55	-2.29

Parameter metabolisme senyawa terpilih dengan menggunakan enzim CYP1A2 inhibitor, CYP2C19 inhibitor, CYP2C9 inhibitor, CYP2D6 inhibitor, dan CYP3A4 inhibitor merupakan substrat dari 5 isoform dan termasuk molekul terapeutik. Isoenzim dapat terhambat karena salah satu penyebab utama interkasi dari obat-obat yang terikat dengan farmakokinetik mengarah pada toksisitas atau berupa efek samping yang tidak diinginkan karena dalam proses ekskresi dan proses akumulasi obat metabolitnya cenderung lebih rendah. Proses metabolisme dari senyawa yang terkandung dalam obat pada umumnya berada di organ hepar/hati (Kirchmair, 2015). Hasil parameter metabolisme menunjukkan 8 dari 15 senyawa daun belimbing wuluh tidak membentuk substrat enzim CYP1A2, karena karakteristik dari subtran enzim ini terdapat senyawa-senyawa planar, aromatis, poliaromatis, heterosiklis amida dan amina. Enzim ini berada pada retikulum endoplasma dan ekspresinya diinduksi oleh beberapa hidrokarbon aromatik polisiklis (PAH) dan bagian dari sitokrom P450, yaitu suatu enzim katalisasi oksidasi dengan berbagai macam obat eksogen dan karsinogen, memiliki senyawa endogen, serta hormon steroid dan amino neuroaktif (Niwa *et al.*, 2018). Sehingga dapat diartikan bahwa dari 15 senyawa 7 diantaranya dapat di metabolisme dengan baik oleh enzim CYP1A2.

Enzim CYP2C19 mempunyai karakteristik senyawa yang netral atau basa lemah atau amida dengan 2 sampai 3 akseptor ikatan hidrogen dimana senyawa-senyawa ini menghambat pompa proton. Enzim ini mempunyai efek farmakokinetik pada proses metabolisme seperti antidepresan, antijamur dan antimalaria. Hasil metabolisme menunjukkan 11 dari 15 senyawa uji daun belimbing wuluh tidak membentuk substrat enzim CYP2C19, hal ini karena senyawa uji tidak memiliki ikatan hidrogen donor yang tidak sesuai dengan enzim CYP2C19 sehingga

pada proses metabolisme enzim kurang optimal. Enzim CYP2C9 mempunyai karakteristik asam lemah terhadap akseptor ikatan hidrogen seperti senyawa pada NSAID. Enzim ini terdapat pada sitokrom P450 yang terletak pada hati manusia dimana terlibat dalam oksidasi dari beberapa senyawa endogen dan xenobiotik. Senyawa uji daun belimbing wuluh menunjukkan 4 dari 15 senyawa yang membentuk substrat dengan CYP2C9, hal ini karena sifat senyawa yang tidak membentuk substrat dapat terionisasi, sehingga tidak termasuk kedalam kategori substrat enzim CYP2C9 karena karakteristiknya harus bersifat asam (Nonionisasi).

Enzim CYP2D6 merupakan enzim yang berfungsi sebagai katalis pada senyawa yang bersifat basa dengan atom nitrogen terprotonasi 4-7, contoh umumnya seperti tanaman yang mengandung senyawa alkaloid dan antidepresan. Enzim ini bertanggungjawab pada proses metabolisme dan eliminasi dengan persentase sekitar 25% obat yang digunakan secara klinis dimana melalui proses penambahan ataupun penghapusan pada kelompok fungsional tertentu, khususnya seperti hidrosilasi, demetilasi dan deakilasi. Senyawa uji daun belimbing wuluh menunjukkan 2 dari 15 senyawa berpotensi sebagai substrat enzim, karena senyawa uji memiliki karakteristik yang sama dan memiliki sifat dasar yang dapat terionisasi.

Terakhir pada proses metabolisme terdapat enzim CYP3A4, enzim ini sering kali terlibat dalam sebagian besar proses metabolisme obat dan merupakan mekanisme penting pada proses farmakokinetik. Senyawa uji daun belimbing wuluh menunjukkan tidak adanya senyawa yang membentuk substrat dengan enzim CYP3A4, hal ini dikarenakan senyawa uji yang memiliki sifat basa atau terdapat ukuran molekul yang tidak sama. Terakhir adalah parameter eksresi, dimana senyawa uji dari daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) yaitu 13 dari 15 senyawa yang memiliki nilai Log Kp >2,5 cm/s sehingga dapat dikatakan memiliki permeabilitas kulit yang baik (Pires *et al.*, 2015).

*Lipinski's (Lipinski's Rule of Five)* adalah aturan suatu senyawa yang memiliki sifat yang mirip dengan obat (*drug-likeness*). *Rule of Five* yang dimaksud adalah harus memiliki tidak lebih dari 5 donor ikatan hidrogen (HBD), tidak lebih dari 500 Dalton berat molekulnya (BM), Log (P) (lipofilisitas) tidak lebih dari 5, serta memiliki tidak lebih dari 10 akseptor ikatan hidrogen (HBA) dan indeks bias molar antara 40-130 (Astuty and Komari, 2022). Terdapat penilaian lebih lanjut yaitu penambahan kriteria pembuatan bioavailabilitas yang lebih baik dari obat oral yaitu *Topological Polar Surface Area* (TPSA) dengan nilai  $\leq 140 \text{ \AA}$  (Chagas *et al.*, 2018). Hasil analisis dengan menggunakan aturan *Lipinski's* dapat dilihat pada tabel 5.8 berikut:

Tabel 9. *Lipinski's rule* dari senyawa daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) (<http://www.swissadme.ch/>)

Ligan	Berat Molekul	H-Bond acceptor	H-Bond donor	Log P	Molar Refractivity	TPSA (Å)
Senyawa 1	410.72	0	0	6.25	143.48	0.00
Senyawa 2	296.53	1	1	3.58	98.94	20.23
Senyawa 3	134.22	0	0	0.55	45.99	0.00
Senyawa 4	126.11	3	1	3.46	31.97	50.44
Senyawa 5	142.20	0	0	3.46	48.91	0.00
Senyawa 6	142.20	0	0	3.80	48.91	0.00
Senyawa 7	156.22	0	0	3.82	53.88	0.00
Senyawa 8	156.22	0	0	2.41	53.88	0.00
Senyawa 9	180.24	2	0	2.23	51.35	26.30
Senyawa 10	144.21	2	1	2.46	42.34	37.30
Senyawa 11	151.04	0	0	3.10	34.02	0.00
Senyawa 12	221.13	1	1	3.43	53.93	20.23
Senyawa 13	198.26	1	1	5.20	62.73	20.23
Senyawa 14	256.42	2	1	5.65	80.80	37.30
Senyawa 15	282.46	2	1	6.25	89.94	37.30

Pada table Log P dan Molar Refractivity terdapat tanda warna kuning, tanda tersebut merupakan senyawa yang melebihi batas nilai dari masing-masing parameter. Dari 15 senyawa daun belimbing wuluh yang digunakan sebagai ligan uji untuk pengujian *Lipinski's rule of five* didapatkan hasil yaitu berat molekul (BM) didapat hasil di bawah angka 500 g/mol, maka dapat disimpulkan bahwa 15 senyawa memiliki berat molekul yang tidak besar, karena jika suatu senyawa memiliki berat molekul yang besar akan membutuhkan ruang besar pada air untuk melarutkan dan tentunya dapat mengurangi kelarutannya. Kemudian ada nilai *Hydrogen Bond Aseptor* (HBA) dibawah 10 (atom nitrogen dan oksigen), dari hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa 15 senyawa memiliki sedikit hidrogen akseptor yang sedikit, karena semakin besar hidrogen akseptor dalam suatu obat, akan mempengaruhi kemampuan obat sehingga sulit menembus membran bi-layer.

Nilai *Hydrogen Bond Donor* (HBD) tidak lebih dari 5 (total ikatan nitrogen-hidrogen, dan oksigen-hidrogen). Nilai ini berhubungan langsung dengan ikatan yang terbentuk antara atom hidrogen dengan atom-atom lainnya dengan elektronegatifitas tinggi contohnya fluorin, nitrogen, dan oksigen. Jika suatu senyawa memiliki banyak ikatan hidrogen donor maka akan mempengaruhi kemampuan permeabilitas obat dan dapat mempengaruhi absorpsi dalam tubuh. Dari 3 aturan di atas tentunya dapat dikatakan telah memenuhi syarat *Lipinski's Rule* tanpa adanya satu penyimpangan. Namun pada parameter koefisien partisi *Log P* yang seharusnya memiliki nilai kurang dari 5, terdapat 4 senyawa yang tidak memenuhi persyaratan yaitu senyawa 1 (*Squalene*) 6,25, senyawa 13 (*2-(1-Phenylethyl) Phenol*) 5,20, senyawa 14 (*Hexadecanoic Acid*) 5,65 dan senyawa 15 (*Oleic Acid*) 6,25. Nilai *Log P* yang baik seharusnya bersifat cukup polar dan cukup non polar, karena senyawa yang cukup polar akan mudah di distribusikan ke aliran darah dan senyawa yang cukup non polar akan mampu menembus membrane sel.

Hasil dari senyawa yang tidak memenuhi persyaratan menunjukkan bahwa senyawa-senyawa tersebut memiliki sifat non polar yang artinya dapat menembus membran sel, sehingga dapat menjadikan senyawa-senyawa tersebut menjadi dominan dan dapat terjebak didalam membran sel. Parameter *Log P* digunakan untuk seleksi awal dari suatu senyawa apakah dapat dilakukan proses *docking* dengan protein target. Pada parameter *Molar Refractivity* dengan nilai antara 40-130 terdapat satu senyawa yaitu senyawa 1 (*Squalene*) yang melebihi nilai 130, hal ini dikarenakan senyawa-senyawa tersebut memiliki struktur rantai yang panjang. Kriteria ini diperkuat lagi dengan nilai *Topological Polar Surface Area* (TPSA) dari ke 15 senyawa memenuhi kriteria yaitu  $\leq 140 \text{ \AA}$  (Chagas *et al.*, 2018).

**g. Prediksi Toksisitas**

Prediksi toksisitas dari 15 senyawa daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) dilakukan dengan menggunakan *software Toxtree*, tujuannya untuk mengevaluasi suatu senyawa dapat bersifat toksik atau tidak toksik. Hasil dari pembacaan prediksi toksisitas dengan parameter yang digunakan ada 2 yaitu *Carmer rules* dan *The Benigni/Bossa Rulebase (Carcinogenicity and Mutagenicity)* dapat dilihat pada tabel 5.10 berikut:

Tabel 10. Hasil prediksi toksisitas senyawa daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L)

Ligan	Parameter	
	<i>Carmer rules</i>	<i>The Benigni/Bossa Rulebase (Carcinogenicity and Mutagenicity)</i>
Squalene	Low (Class I)	Negative for nongenotoxic carcinogenicity (Class 9) and Negative for nongenotoxic carcinogenicity (Class 9)
Phytol	Low (Class I)	Negative for nongenotoxic carcinogenicity (Class 9) and Negative for nongenotoxic carcinogenicity (Class 9)
1,4-Diethylbenzene	Low (Class I)	Negative for nongenotoxic carcinogenicity (Class

Ligan	Parameter	
	Carmer rules	The Benigni/Bossa Rulebase (Carcinogenicity and Mutagenicity)
		9) and Negative for nongenotoxic carcinogenicity (Class 9)
2-Methyl-3-hydroxypyran-4(4H)-one (Maltol)	Intermediate (Class II)	Negative for nongenotoxic carcinogenicity (Class 9) and Negative for nongenotoxic carcinogenicity (Class 9)
2-Methylnaphthalene	High (Class III)	Negative for nongenotoxic carcinogenicity (Class 9) and Negative for nongenotoxic carcinogenicity (Class 9)
1-Methylnaphthalene	High (Class III)	Negative for nongenotoxic carcinogenicity (Class 9) and Negative for nongenotoxic carcinogenicity (Class 9)
1,4-Dimethylnaphthalene	High (Class III)	Negative for nongenotoxic carcinogenicity (Class 9) and Negative for nongenotoxic carcinogenicity (Class 9)
2,3-Dimethylnaphthalene	High (Class III)	Negative for nongenotoxic carcinogenicity (Class 9) and Negative for nongenotoxic carcinogenicity (Class 9)
Dihydroactinidiolide	High (Class III)	Negative for nongenotoxic carcinogenicity (Class 9) and Negative for nongenotoxic carcinogenicity (Class 9)
Octanoic Acid	Low (Class I)	Negative for nongenotoxic carcinogenicity (Class 9) and Negative for nongenotoxic carcinogenicity (Class 9)
3-Bromopentane	High (Class III)	Structural Alert for genotoxic carcinogenicity (Class I) and Negative for nongenotoxic carcinogenicity (Class 9)
2-Bromo-1-nonene-3-nol	High (Class III)	Structural Alert for genotoxic carcinogenicity (Class I) and Negative for nongenotoxic carcinogenicity (Class 9)
2-(1-Phenylethyl) phenol	High (Class III)	Negative for nongenotoxic carcinogenicity (Class 9) and Negative for nongenotoxic carcinogenicity (Class 9)
Hexadecanoic acid (Palmitic Acid)	Low (Class I)	Negative for nongenotoxic carcinogenicity (Class 9) and Negative for nongenotoxic carcinogenicity (Class 9)
Oleic Acid	Low (Class I)	Negative for nongenotoxic carcinogenicity (Class 9) and Negative for nongenotoxic carcinogenicity (Class 9)

Prediksi toksisitas dari senyawa uji daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) dengan menggunakan *webserver Toxtree*. Hasil dari parameter *Carmer rules* menunjukkan 6 senyawa uji (*Squalene*, *Phytol*, *1,4-Diethylbenzene*, *Octanoic Acid*, *Hexadecanoic Acid*, *Oleic Acid*) termasuk dalam kategori 1 yaitu toksisitas rendah (*Low Class*). Hal ini menunjukkan senyawa daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) termasuk kedalam senyawa dengan struktur kimia yang dianggap terjamin keamanannya atau kemungkinan tidak terjadi toksisitas yang tinggi. Hasil parameter *The Benigni/Bossa Rulebase (Carcinogenicity and Mutagenicity)* dari senyawa uji daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) yaitu 13 senyawa (*Squalene*, *Phytol*, *1,4-Diethylbenzene*, *2-Methyl-3-hydroxypyran-4(4H)-one*, *2-Methylnaphthalene*, *1-*

*Methylnaphthalene, 1,4-Dimethylnaphthalene, 2,3-Dimethyl naphthalene, Octanoic Acid, 2-(1-Phenylethyl)-phenol, Hexadecanoic Acid, Oleic Acid*) memiliki hasil negatif terhadap *genotoksik* maupun *nongenotoksik* karsinogen sehingga tidak bersifat karsinogenik (Noviardi *et al.*, 2020).

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan dari penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa Interaksi kandungan kimia daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) yaitu senyawa 7 (*1,4-Dimethylnaphthalene*) terhadap 3 protein memiliki nilai  $\Delta G_{binding}$  paling rendah yaitu *Checkpoint Kinase 1* (Chk1) (PDB ID:2R0U) -6,2 (Kkal/mol) yang berikatan dengan ligan M54, *CyclinA* (PDB ID:6GUE) -3,6 (Kkal/mol) yang berikatan dengan ligan FB8, *Apoptosis Regulator Bcl-2* (PDB ID:4LXD) -6,2 (Kkal/mol) yang berikatan dengan ligan IXV, maka dapat dikatakan stabil berikatan dengan reseptor. Prediksi profil farmakokinetik dari 15 senyawa daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) hanya terdapat 1 senyawa yaitu senyawa 3 (*1,4-Diethylbenzene*) yang memenuhi parameter ADME yaitu memiliki absorbansi yang tinggi, dapat didistribusi dan di metabolisme dengan baik, jadi bisa dikatakan senyawa tersebut dapat diprediksi memiliki profil farmakokinetik terbaik. Prediksi toksisitas dari 15 senyawa daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) menunjukkan 6 senyawa uji termasuk dalam kategori 1 yaitu toksisitas rendah (*Low Class*), dan 13 senyawa memiliki hasil negatif terhadap *genotoksik* maupun *nongenotoksik* karsinogen sehingga tidak bersifat karsinogenik.

## DAFTAR PUSTAKA

- Astuty, F. And Komari, N. (2022) *Kajian Molecular Docking Senyawa Karwinaphthol B Dari Tanaman Bawang Dayak (Eleutherine Palmifolia (L.) Merr) Sebagai Inhibitor Enzim Glukokinase, Kajian Molekuler Docking....* |. Available At: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.
- Basir, I. *Et Al.* (2014) 'Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran: Kanker Kolorektal'. Komite Penanggulangan Kanker Nasional Kementerian Kesehatan, Jakarta.
- Chagas, C.M., Moss, S. And Alisaraie, L. (2018) 'Drug Metabolites And Their Effects On The Development Of Adverse Reactions: Revisiting Lipinski's Rule Of Five', *International Journal Of Pharmaceutics*. Elsevier B.V., Pp. 133–149. Available At: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.07.046>.
- Chen, Z. *Et Al.* (2015) 'Dietary Patterns And Colorectal Cancer: Results From A Canadian Population-Based Study', *Nutrition Journal*, 14(1), Pp. 1–9. Available At: <https://doi.org/10.1186/1475-2891-14-8>.
- Farid Yoga Pratama, M. *Et Al.* (2016) 'Kajian Docking Molekuler Pada Binding Site Pocket Dari Flavopiridol Dalam Menghambat Glikogen Fosforilase Menggunakan Pyrx-Autodock-Vina'. Available At: [www.dekois.com](http://www.dekois.com).
- Ferwadi, S. *Et Al.* (2017) *Studi Docking Molekuler Senyawa Asam Sinamat Dan Derivatnya Sebagai Inhibitor Protein Ij4x Pada Sel Kanker Serviks Molecular Docking Study Of Cinnamate Acid Compound And Its Derivatives As Protein Ij4x Inhibitor To Cervical Cancer Cell*. Available At: <http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do>?
- Govindarasu, M. *Et Al.* (2021) 'In Silico Modeling And Molecular Docking Insights Of Kaempferitrin For Colon Cancer-Related Molecular Targets', *Journal Of Saudi Chemical Society*, 25(9). Available At: <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2021.101319>.
- Hamzah, M.F., Amanah, A. And Lau, W.K. (2021) 'Isolation Of Active Averrhoa Bilimbi Phytocompounds Corresponding To Brown Adipocytes Stimulation', *F1000research*, 10, P. 398. Available At: <https://doi.org/10.12688/f1000research.52197.1>.
- Hernandez-Santoyo, A. *Et Al.* (2013) 'Protein-Protein And Protein-Ligand Docking', In *Protein Engineering - Technology And Application*. Intech. Available At: <https://doi.org/10.5772/56376>.
- Maukar, M.A., Runtuwene, M.R.J. And Pontoh, J. (2013) 'Analisis Kandungan Fitokimia Dari Uji Toksisitas Ekstrak Metanol Daun Soyogik (Sauraula Bracteosa Dc) Dengan Menggunakan Metode Maserasi', *Jurnal Ilmiah Sains*, 13(2), P. 98. Available At: <https://doi.org/10.35799/jis.13.2.2013.3052>.

- Milone, M.C. (2012) 'Therapeutic Drug Monitoring Of Selected Anticancer Drugs: Pharmacogenomics Issues. Pharmacogenomics Issues.', In *Therapeutic Drug Monitoring: Newer Drugs And Biomarkers*. Elsevier, Pp. 291–321. Available At: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385467-4.00014-2>.
- Niwa, T. *Et Al.* (2018) *Effect Of Cytochrome P450 (Cyp) 2d6 Genetic Polymorphism On The Inhibitory Action Of Antidepressants On Cyp2d6-Mediated Dopamine Formation From P-Tyramine*, *J Pharm Pharm Sci (Www.Cspscanada.Org)*. Available At: [Www.Cspscanada.Org](http://www.cspscanada.org).
- Noviardi, H. *Et Al.* (2020) *Penapisan Molekular Kandidat Obat Sintetik Tuberkulosis Terhadap Protein Tirosin Kinase Mycobacterium Tuberculosis*, *Jurnal Farmamedika*. Available At: <http://lmmd.ecust.edu.cn/admetsar1/predict/>.
- Perdana Istyastono, E. (2015) 'Employing Recursive Partition And Regression Tree Method To Increase The Quality Of Structure-Based Virtual Screening In The Estrogen Receptor Alpha Ligands Identification', 8.
- Pires, D.E.V., Blundell, T.L. And Ascher, D.B. (2015) 'PkcsM: Predicting Small-Molecule Pharmacokinetic And Toxicity Properties Using Graph-Based Signatures', *Journal Of Medicinal Chemistry*, 58(9), Pp. 4066–4072. Available At: <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00104>.
- Pires, P.C. And Santos, A.O. (2018) 'Nanosystems In Nose-To-Brain Drug Delivery: A Review Of Non-Clinical Brain Targeting Studies', *Journal Of Controlled Release*. Elsevier B.V., Pp. 89–100. Available At: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.11.047>.
- Putri, P.V.P., Susanti, N.M.P. And Laksmiani, N.P.L. (2019) 'Senyawa Kuersetin Sebagai Agen Antikanker Kolorektal Secara In Silico', *Jurnal Kimia*, P. 166. Available At: <https://doi.org/10.24843/jchem.2019.V13.I02.P07>.
- Rahmadania, E., Wibowo, A.A. And Rosida, L. (2015) 'Distribusi Pola Diet Pasien Kanker Kolorektal Di Rsd Ulin Banjarmasin Periode Agustus - Oktober 2015 Tinjauan Terhadap Diet Lemak, Diet Protein, Diet Serat Berdasarkan Usia Dan Jenis Kelamin', Pp. 215–227.
- Ramayanti, K., Riza, H. And Fajriaty, I. (2016) *Molecular Docking Of Drymaritin, Triptonine A And Triptonine B Compounds Against Hiv Enzymes*. Available At: <http://www.rcsb.org/pdb/>.
- Reynaldi, M.A. And Setiawansyah, A. (2022) 'Potensi Anti-Kanker Payudara Tanaman Songga (*Strychnos Lucida* R.Br): Tinjauan Interaksi Molekuler Terhadap Reseptor Estrogen-A In Silico', *Sasambo Journal Of Pharmacy*, 3(1), Pp. 30–35. Available At: <https://doi.org/10.29303/sjp.v3i1.149>.
- Sari, I.W., Junaidin, J. And Pratiwi, D. (2020) 'Studi Molecular Docking Senyawa Flavonoid Herba Kumis Kucing (*Orthosiphon Stamineus* B.) Pada Reseptor A-Glukosidase Sebagai Antidiabetes Tipe 2', *Jurnal Farmagazine*, 7(2), P. 54. Available At: <https://doi.org/10.47653/farm.v7i2.194>.
- Syahputra, G., Ambarsari, L. And Sumaryada, T. (2014) *Simulasi Docking Kurkumin Enol, Bisdemetoksikurkumin Dan Analognya Sebagai Inhibitor Enzim 12-Lipoksigenase*.