

ANTI BREAST CANCER VIRTUAL SCREENING FROM ACTIVE COMPOUND OF BLACK MULBERRY ROOT (*Morus nigra* L.)

Riska Prasetiawati¹, Rima Afriani², Benny Permana³, Novriyanti Lubis*⁴

^{1,2,4}Program Studi Farmasi Universitas Garut, Jalan Jati No 42B Tarogong Kaler, Garut, Jawa Barat, 44151, Indonesia

³Sekolah Farmasi Institut Teknologi Bandung, Jalan Ganeca No 10 Bandung, Jawa Barat, 40132, Indonesia

*Corresponding author: Novriyanti Lubis (novriyantilubis@uniga.ac.id)

ARTICLE HISTORY

| Received: 7 June 2022

| Revised: 16 January 2023

| Accepted: 25 January 2023

Abstract

Breast cancer is an overgrown or unstable development of breast cells that later spread out to the cells or organ near the breast or to the other parts of the body. Black mulberry root was observed and it shows the activity as an antioxidant and anti-inflammation. Based on the research, a compound from black mulberry root is acquired which is predicted to have an activity as the anti-breast cancer because of its antioxidant and anti-inflammation. The aim of this study is to observe a new anti-breast cancer compound candidate. An active compound from black mulberry root has great interactions towards the ER- α and ER- β through pharmacophore identification and molecular docking method. 29 black mulberry root compounds were determined using the pharmacophore screening method with the LigandScout 4.3 program and tethered to target receptors using the molecular tethering method with the AutoDockTools 1.5.6 program. Based on the result of mooring analysis, an active compound of black mulberry root known as Morachalcone A is gained as the lead compound towards the ER- β . Morachalcone A has a pharmacophore fit score of 67,55% and a free binding energy (ΔG) of -11.28 kkal/mol where the binding energy is lower than the natural ligand Genistein which is the natural ligand from ER- β with the value of -10,25 kkal/mol with amino acids moored to the Morachalcone A are GLU305, HIS475, LEU298 dan GLY472. It shows that Morachalcone A has the potential as the new anti-breast cancer compound candidate which targeted to the ER- β . Through the toxicity test and physicochemical properties, Morachalcone A compound has met the requirements. Meanwhile, through the pharmacokinetics profile test results, the Morachalcone A compound has not met the requirements.

Key words: black mulberry root, breast cancer, ER- α and ER- β , molecular docking, pharmacophore screening

SKRINING VIRTUAL ANTIKANKER PAYUDARA DARI SENYAWA AKTIF AKAR MURBEI HITAM (*Morus nigra* L.)

Abstrak

Penyakit kanker payudara disebabkan oleh adanya pertumbuhan sel-sel yang tidak normal dan tidak terkontrol di dalam payudara. Akar Murbei Hitam (*Morus nigra* L.) telah diteliti menunjukkan aktivitas sebagai antioksidan dan antiinflamasi. Berdasarkan paparan tersebut, didapatkan senyawa dari akar Murbei Hitam yang diprediksi memiliki aktivitas antikanker payudara. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh kandidat senyawa baru antikanker payudara serta membuktikan bahwa senyawa-senyawa yang berasal dari senyawa aktif akar Murbei Hitam dapat memiliki interaksi baik terhadap ER- α dan ER- β melalui metode identifikasi farmakofor dan penambatan molekul. 29 senyawa akar Murbei Hitam terlebih dahulu ditentukan menggunakan metode skrining farmakofor dengan program LigandScout 4.3 dan ditambatkan pada reseptor target menggunakan metode penambatan molekul dengan program AutoDockTools 1.5.6. Analisis hasil penambatan diperoleh satu senyawa aktif akar Murbei Hitam sebagai *lead compound* terhadap ER- β yaitu Morachalcone A yang memiliki pharmacophore fit score 67,55% dan nilai ikatan energi bebas (ΔG) -11.28 kkal/mol, dimana nilai energi bebas lebih rendah dibandingkan dengan ligan alami Genistein yang merupakan ligan alami dari ER- β yaitu sebesar -10,25 kkal/mol dan residu asam amino yang terikat pada Morachalcone A yaitu GLU305, HIS475, LEU298 dan GLY472. Perolehan data tersebut menggambarkan bahwa Morachalcone A memiliki potensi sebagai kandidat senyawa baru antikanker payudara yang ditargetkan pada ER- β . Dilihat dari pengujian toksisitas dan sifat fisikokimia senyawa Morachalcone A telah memenuhi persyaratan. Tetapi dilihat dari hasil pengujian profil farmakokinetikanya senyawa ini belum memenuhi persyaratan.

Kata kunci: akar murbei, ER- α dan ER- β , kanker payudara, penambatan molekul, skrining farmakofor

Pendahuluan

Kanker adalah suatu penyakit tetapi tidak menyebabkan penularan karena kanker terjadi akibat proliferasi sel yang tidak terkendali, sehingga menjalar ke organ tubuh lain yang letaknya jauh dan mengarah menyerang jaringan disekitarnya. Dari tahun ke tahun jumlah penderita kanker semakin bertambah dan dikategorikan sebagai suatu penyakit yang kompleks.¹ Berdasarkan data badan kesehatan dunia (WHO), pada tahun 2018 diperkirakan sebanyak 9,6 juta orang meninggal karena penyakit kanker. Setiap tahunnya angka kejadian kanker diperkirakan akan meningkat dan diperkirakan mencapai 23,6 juta pengidap kanker baru per tahun pada 2030.² Kanker payudara menempati peringkat kelima berdasarkan kedua jenis kelamin dan semua usia, dilihat dari jenis-jenis kanker yang menyebabkan kematian setelah kanker paru-paru, kolorektum, perut dan hati. Kanker payudara bisa terjadi terhadap pria maupun wanita.

Hasil penelitian GLOBOCAN International Agency for Research on Cancer (IARC) tahun 2018 menunjukkan bahwa sebanyak 2.088.849 pengidap kanker payudara dan persentase kematian akibat kanker payudara sebesar 6,6%.³ Kanker payudara disebabkan oleh berbagai hal diantaranya faktor genetik, penggunaan kontrasepsi atau terapi penggantian hormon wanita, radiasi (sinar X) ke payudara, gaya hidup yang kurang baik dan faktor reproduksi seperti nuliparitas (wanita yang belum melahirkan) dan kehamilan pertama pada umur di atas 30 tahun, tidak pernah menyusui anak,

faktor reproduksi lain yang mungkin berperan yaitu menarche (menstruasi pertama) pada usia muda dan menopause (berhentinya menstruasi) pada usia lebih tua.⁴

Penelitian terdahulu menginformasikan bahwa proses menyusui dapat mengurangi risiko terkena kanker payudara.⁵ Perkembangan jaringan payudara melibatkan beberapa hormon diantaranya hormon prolaktin, progesterone, estrogen dan pertumbuhan. Namun demikian terpapar hormon estrogen secara berlebihan dapat memicu timbulnya pertumbuhan sel secara abnormal diluar batas biasanya pada bagian tertentu. Mekanisme terjadinya kanker payudara akibat terpapar estrogen belum diketahui secara pasti, karena masih menjadi kontroversi diakibatkan stimulasi estrogen terhadap pembelahan sel epitel atau karena diakibatkan oleh estrogen atau metabolitnya yang secara langsung bertindak sebagai mutagen. Penemuan reseptor estrogen, selain bisa digunakan sebagai prediksi dan penanda prognostik, bisa juga sebagai target yang efisien untuk pengobatan kanker. Hal ini menyebabkan perlunya dilakukan berbagai penelitian untuk menemukan obat alternatif yang berpotensi sebagai obat antikanker, baik itu dari bahan alam. Obat antikanker merupakan obat sintesis yang umumnya memiliki efek samping cukup besar yang tidak diinginkan dan harga yang relatif mahal, sehingga banyak masyarakat yang berpaling pada obat dari bahan alam.

Pengembangan obat dari bahan alam saat ini menjadi jalan untuk meminimalisir efek samping obat. Salah satu tumbuhan yang dimanfaatkan sebagai obat adalah akar Murbei Hitam. Akar Murbei Hitam (*Morus nigra* L.) tersebar luas di berbagai negara dengan iklim tropis maupun subtropis salah satunya Indonesia.⁶ Tumbuhan ini umum digunakan untuk obat-obatan tradisional dan sebagian besar masyarakat hanya memanfaatkan bagian buah, ranting serta daun, sedangkan akarnya hanya dijadikan sebagai limbah. Akar Murbei Hitam (*Morus nigra* L.) diprediksi memiliki aktivitas antikanker payudara karena memiliki aktivitas sebagai antioksidan, dan antiinflamasi. Kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak Akar Murbei Hitam (*Morus nigra* L.) yang berupa flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa fenol. Flavonoid merupakan senyawa aktif berfungsi sebagai antiinflamasi, antibakteri dan antioksidan.

Berdasarkan kajian tersebut dapat dijadikan pilihan sebagai bahan baku obat yang dapat memberikan manfaat, juga berpotensi dengan efek yang setara atau lebih dari pada ligan alami, tetapi memiliki efek samping yang lebih rendah.⁷ Pada penelitian ini dilakukan pengujian secara *in silico* dengan skrining farmakofor dan penambatan molekular senyawa dari akar Murbei Hitam (*Morus nigra* L.) terhadap ER- α dan ER- β sebagai senyawa baru antikanker payudara. Dilakukan pengujian profil farmakokinetika dan sifat fisikokimia dari senyawa melalui situs Pre-ADMET dan Lipinski's Rule of Five.

Metode

Alat

Perangkat Keras (Hardware)

Perangkat berupa Asus Laptop dengan spesifikasi Processor Intel® Core™ i5-8250U CPU @ 1.60 GHz RAM 4,00 GB.

Perangkat Lunak (Software)

Sistem Operasi Windows 10 Home, 64-bit, dilengkapi dengan beberapa perangkat lunak yang digunakan dalam penelitian secara komputasi ini diantaranya terdiri dari program LigandScout® 4.3 (Free Trial 30 Days), Discovery Studio Visualizer®, ChemDraw® Ultra 12.0, Chem3D® Pro 12.0, Notepad++®, Autodesk Tools® (The Scripps Research Institute, Amerika), serta situs Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>), PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>), Lipinski's Rule

of Five (<http://www.scfbio-iitd.res.in/software/drugdesign/lipinski.jsp>), DUD-E (<http://dude.docking.org/>), dan Pre-ADMET (<https://preadmet.bmdrc.kr/>).

Bahan

Struktur Tiga Dimensi Reseptor

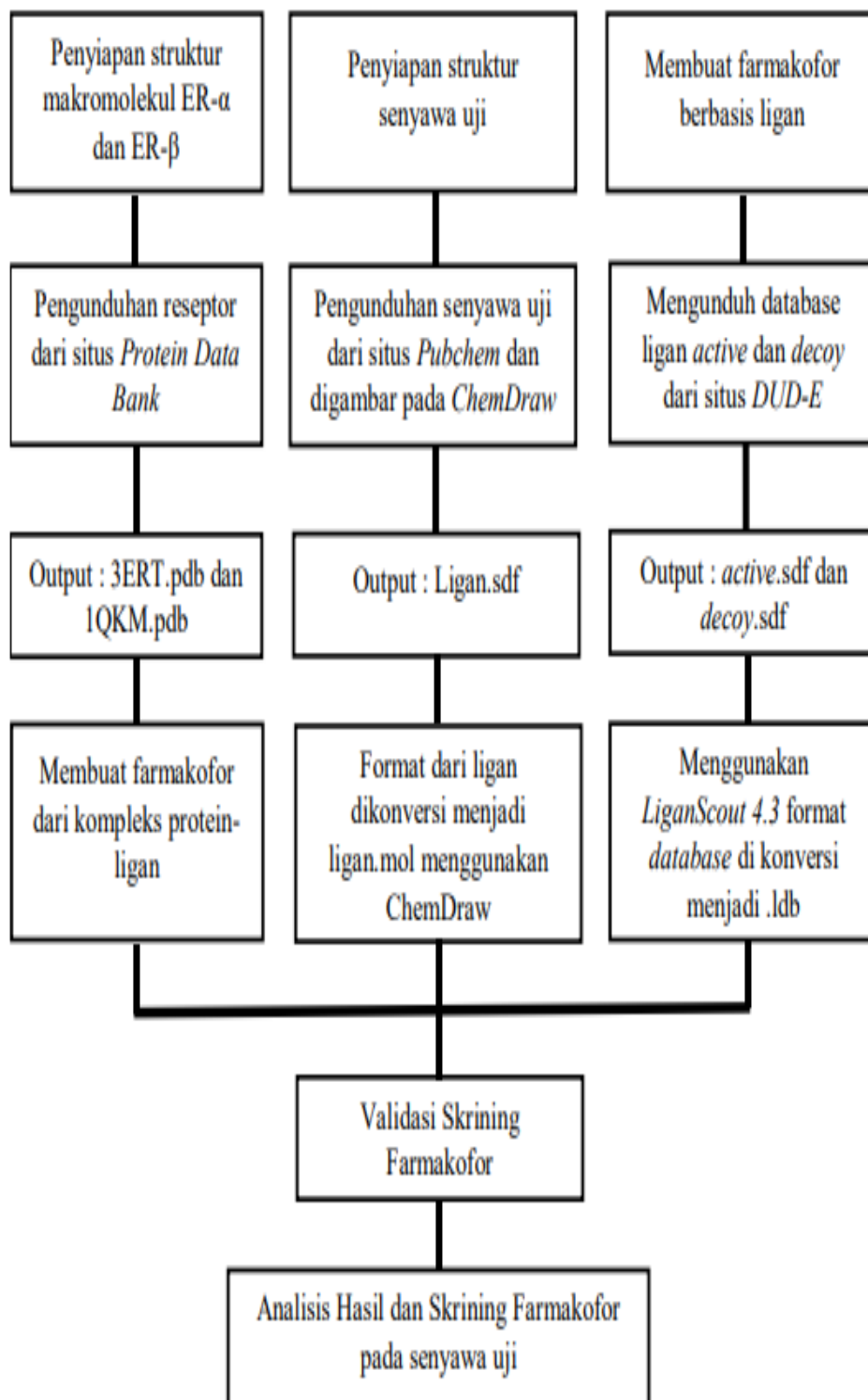
Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah struktur 3D protein dari ER- α (reseptor estrogen alfa) dan ER- β (reseptor estrogen beta), sebagai pembandingnya digunakan ligan alami dari masing-masing reseptor yaitu ER- α dengan ligan alami 4-hydroxytamoxifen dan ER- β ligan alaminya genistein yang didapat dari metode kristalografi sinar-X dengan resolusi berturut-turut 1.9 Å dan 1.8 Å diperoleh dari website Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>). Identitas makromolekul tersebut adalah 3ERT dan 1QKM berformat (.pdb).

Struktur Tiga Dimensi Ligan

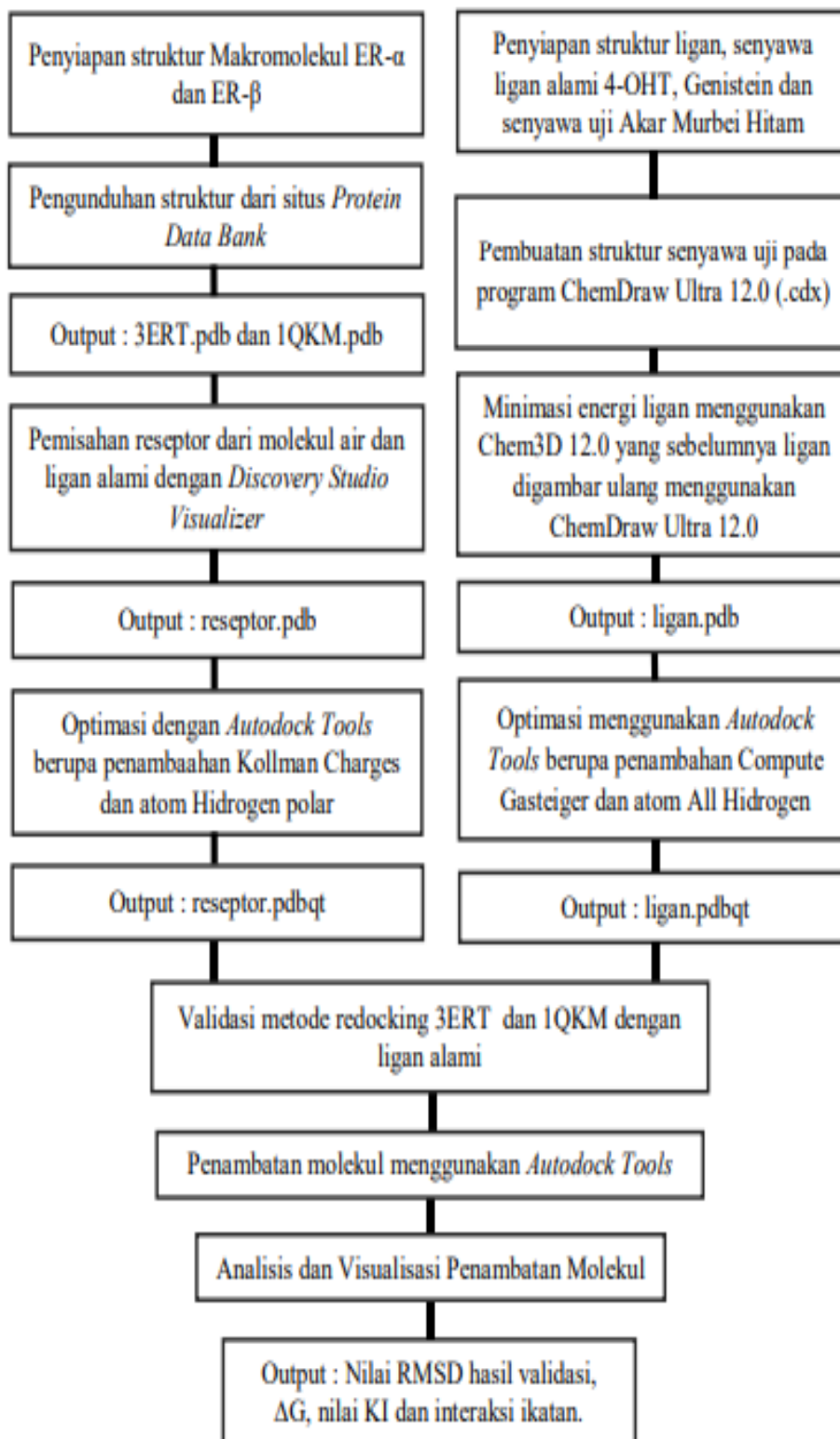
Struktur tiga dimensi ligan yang digunakan adalah senyawa-senyawa yang terdapat dalam akar Murbei Hitam (*Morus nigra* L.) yang didapat melalui pengunduhan dari situs (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dengan format(.sdf) dan menggambar ulang menggunakan program ChemDraw® Ultra 12.0.

Prosedur

Prosedur penelitian ini dibagi menjadi dua prosedur besar yaitu dilakukan terlebih dahulu skrining farmakofor mulai dari persiapan struktur makromolekul EER- α dan ER- β sampai dengan analisis hasil dan skrining farmakofor pada senyawa uji. Kemudian dilanjutkan dengan penelitian, penambatan molekul, langkah pertama persiapan struktur makromolekul EER- α dan ER- β dan terakhir analisis dan validasi penambatan molekul sehingga didapatkan data berupa nilai RSMD, ΔG , nilai KI dan interaksi ikatan. Bagan alur penelitian dapat dilihat pada Gambar 1 dan Gambar 2.



Gambar 1. Alur penelitian skrining farmakofor



Gambar 2. Alur penelitian penambatan molekul

Hasil

Tabel 1. Hasil *Skrining* Farmakofor Senyawa Akar Murbei Hitam (*Morus nigra* L.) terhadap 4-Hydroxytamoxifen

No.	Nama Senyawa	Matching Features	Fit Score
1	Cudraflavone C		60.84
2	Cudraflavone B		60.76
3	Norartocarpetin		53.74
4	Morachalcone A		53.70
5	Steppogenin-7-O-β-D-glucoside		53.37
6	2,4,2',4' - tetrahydroxychalcone		52.67
7	Oxyresveratrol-2-O-β-D-glucopyranoside		52.43
8	Morin-7-O-β-D-glucoside		51.96

Tabel 2. Hasil *Skrining* Farmakofor Senyawa Akar Murbei Hitam (*Morus nigra* L.) terhadap Genistein

No	Senyawa	Matching Features	Fit Score
1	2,4,2',4' - tetrahydroxychalcone		67.72
2	Oxyresveratrol-3' -O-β-D-glucopyranoside		67.60
3	Morachalcone A		67.55
4	Oxyresveratrol-2-O-β-D-glucopyranoside		67.51
5	Steppogenin-7-O-β-D-glucoside		67.25
6	Moracin M		51.89

Penjelasan simbol kuning interaksi hidrofobik, merah menunjukkan akseptor ikatan hidrogen, hijau menandakan donor ikatan hidrogen, biru merupakan cincin aromatik.

Tabel 3. Hasil Validasi Metode dengan *Redocking* Ligan Alami

Kode PDB	Grid Box	RMSD	Ikatan Energi Bebas	Residu Asam Amino
3ERT	X: 30.010 Y: -1.913 Z: 24.207	1,02 Å	-11,51	ARG394, GLU353
1QKM	X: 22.438 Y: 8.003 Z: 113.539	0,5 Å	-10,25	ARG346, GLU305, LEU339, HIS475

Hasil Penambatan Molekul ER- α dan ER- β

Tabel 4. Hasil Penambatan Molekul ER- α

No	Senyawa /Ligan Uji	ΔG (kkal / mol)	Jumlah Ikatan Hidrogen	Residu Asam Amino	KI (nM)
Ligan alami					
	Ligan alami 4-OHT	- 11,51	2	ARG394, GLU353	3.64
Senyawa aktif akar <i>Morus nigra</i> L.					
1	Cudraflavone C	-9.60	4	GLU353, LEU346, MET343, THR347	92.35
2	Cudraflavone B	-8.99	3	LEU387, MET343, THR347	256.17
3	Oxyresveratrol-2-O- β -D-glucopyranoside	-8.82	5	ARG394, GLU353, GLY521, HIS524, THR347	339.88
4	Steppogenin-7-O- β -D-gucoside	-8.44	6	ARG394, ASP351, LEU346, LEU384, MET344 THR347	655.06
5	2,4,2',4'-tetrahydroxychalcone	-8.33	5	ARG394, GLU353, GLY521, HIS524, LEU346	789.51

Tabel 4. (Lanjutan)

No	Senyawa Ligan Uji	ΔG (kkal/mol)	Jumlah Ikatan Hidrogen Ligan alami	Residu Asam Amino	KI (nM)
	Ligan alami 4-OHT	-11,51	2	ARG394, GLU353	3.64
Senyawa aktif akar <i>Morus nigra</i> L.					
6	Morachalcone A	-7.91	2	ASP351, THR347	1.59 μM
7	Morin-7-O- β -D-glucoside	-7.78	3	GLU353, MET343, THR347	2 μM
8	Norartocarpetin	-7.38	4	GLU353, GLY521, HIS524, LEU387	3.89 μM

Tabel 5. Hasil Penambatan Molekul ER- β

Ligan alami					
	Ligan alami Genistein	-10,25	4	ARG346, GLU305, LEU339, HIS475	30.70 nM
Senyawa aktif akar <i>Morus nigra</i> L.					
1	Morachalcone A	-11.28	4	GLU305, HIS475, LEU298, GLY472	5.39
2	Steppogenin 7-O- β -D-glucoside	-9.29	2	GLU305 LEU298	155.51
3	2,4,2',4'-tetrahydroxychalcone	-8.91	4	GLU305, ARG36, GLY42, LEU298	296.21
4	Oxyresveratrol-2-O- β -D-glucopyranoside	-8.75	4	GLU305, LEU339, HIS475, GLY472	385.03
5	Moracin M	-8.64	1	GLU305	464.30
6	Oxyresveratrol-3'-O- β -D-glucopyranoside	-8.54	4	GLU305, LEU339, HIS475, GLY472	545.52

Tabel 6. Sifat Fisikokimia Senyawa Uji Lipinski's *rule of five*

No	Senyawa/ Ligan Uji	Donor Hidrogen	Akseptor Hidrogen	Bobot Molekul	Log P	Persyaratan
1	Cudraflavone C	4	6	450	6.14	Memenuhi
2	Cudraflavone B	3	6	420	5.33	Memenuhi
3	Oxyresveratrol- 2-O-β-D- glucopyranoside	7	10	408	0.61	Memenuhi
4	Steppogenin-7- O-β-D-glucoside	7	11	450	-0.31	Memenuhi
5	2,4,2',4'- tetrahydroxychal cone	4	5	272	2.4	Memenuhi
6	Morachalcone A	4	5	354	4.3	Memenuhi
7	Morin-7-O-β-D- glucoside	8	12	464	-0.51	Memenuhi
8	Moracin M	3	4	242	3.21	Memenuhi
9	Norartocarpetin Oxyresveratrol-	4	6	286	2.12	Memenuhi
10	3'-O-β-D- glucopyranoside	7	9	406	0.15	Memenuhi

Tabel 7. Data Hasil Pengujian PreADME dan Uji Toksisitas

No	Nama Senyawa	Caco-2 cell (nmsec ⁻¹)	HIA (%)	Protein Plasma Binding	Muta Genik	Karsino genik
1	Cudraflavone C	20.644 ^b	89.999 ^a	99.97 ^a	Non- mutagen	Negatif
2	Cudraflavone B	19.35 ^b	92.47 ^a	94.29 ^a	Non- mutagen	Negatif
3	Oxyresveratrol-2- O-β-D- glucopyranoside	11.02 ^b	28.29 ^b	96.26 ^a	Mutagen	Positif
4	Steppogenin-7-O- β-D- glucoside	9.73 ^b	21.74 ^b	67.34 ^b	Non- mutagen	Negatif
5	2,4,2',4'- tetrahydroxychalcone	20.01 ^b	80.61 ^a	100 ^a	Mutagen	Positif
6	Morachalcone A	20.57 ^b	86.73 ^a	100 ^a	Non- mutagen	Negatif
7	Morin-7-O-β-D- glucoside	9.73 ^b	21.74 ^b	67.34 ^b	Mutagen	Negatif
8	Moracin M	0.42 ^c	87.26 ^a	96.67 ^a	Mutagen	Positif
9	Norartocarpetin	18.57 ^b	79.43 ^a	97.27 ^a	Mutagen	Positif
10	Oxyresveratrol-3'- O-β-D- glucopyranoside	10.16 ^b	36.73 ^b	95.24 ^a	Mutagen	Positif

Pembahasan

Reseptor estrogen merupakan protein penting sebagai target aksi molekul obat atau ligan. Pada penelitian ini digunakan dua jenis reseptor, yaitu reseptor estrogen alfa (ER- α) dan reseptor estrogen beta (ER- β) dengan kode berturut-turut 3ERT dan 1QKM. Ligan yang digunakan adalah senyawa aktif dari akar Murbei Hitam (*Morus nigra* L.). Untuk Struktur 3D diperoleh dari *website* Pubchem. Jumlah kandungan total senyawa aktif dalam akar Murbei hitam (*Morus nigra* L.) terdapat 29 senyawa. Sebagai pembandingnya, digunakan 4-Hydroxytamoxifen dan Genistein. Skrining virtual farmakofor dilakukan dengan tujuan untuk pengayaan maksimum senyawa aktif pada daftar hit. Untuk mengetahui bahwa LigandScout® yang merupakan perangkat lunak dapat digunakan pada penelitian ini maka dilakukan validasi. Model farmakofor yang valid dapat mengidentifikasi senyawa aktif yang dikenal dan sedikit mungkin decoy. Hasilnya diketahui bahwa dari total senyawa active dan decoy yaitu 250 didapatkan 118 senyawa hit dengan nilai AUC100 sebesar 0,95 untuk ER- α dan untuk ER- β didapatkan 82 senyawa hit dengan nilai AUC100 0,81. Dapat disimpulkan, metode yang telah digunakan telah memenuhi persyaratan yaitu nilai AUC100 \geq 70%.^{8,9}

Parameter-parameter untuk penentuan afinitas senyawa uji terhadap reseptor yaitu (KI) konstanta inhibisi dan (ΔG) nilai ikatan energi. Afinitas ligan semakin tinggi jika nilai KI semakin kecil dan nilai (ΔG) semakin negatif. Parameter hasil terbaik dari proses penambatan dilihat juga dari residu asam amino dari interaksi ikatan hidrogen dengan reseptor. Hasil skrining farmakofor dan penambatan molekul senyawa uji Murbei Hitam (*Morus nigra* L.) terhadap ER- α tidak ditemukan senyawa uji dengan nilai energi bebas (ΔG) lebih rendah dibandingkan dengan senyawa alami yaitu 4-OHT. Nilai energi bebas dari ligan alami 4-OHT ialah -11,51 kkal/mol. Sedangkan terdapat 1 senyawa akar Murbei hitam (*Morus nigra* L.) yang berhasil ditambatkan terhadap ER- β dengan energi bebas lebih rendah dibanding ligan alami. Nilai energi bebas dari ligan alami Genistein ialah -10,25 kkal/mol dan residu asam amino yang terikat yaitu GLU305, LEU298, HIS475, dan GLY472. Senyawa yang memiliki energi bebas lebih rendah dari ligan alami pada ER- β yaitu Morachalcone A dengan nilai energi bebas -11,28 kkal/mol dan terdapat interaksi antara genistein dengan reseptor menghasilkan 4 residu asam amino yaitu GLY305, GLU305, HIS475, dan LEU339.

Analisis sifat fisiko kimia ligan dilakukan berdasarkan Lipinski's rule of five. Aturan Lipinski dapat menunjukkan tingkat hidrofob atau hidrofilitas molekul obat sebelum dilakukan percobaan penambatan. Beberapa kriteria persyaratan tersebut adalah nilai log P < 5, jumlah donor ikatan hidrogen < 5, jumlah akseptor donor ikatan hidrogen < 10, dan mempunyai BM < 500 Da.¹⁰ Dari hasil skrining farmakofor dan penambatan molekul, didapatkan senyawa yang sudah memenuhi persyaratan dari Lipinski's *rule of five*. Artinya sifat fisiko kimia senyawa yang terkandung dalam akar Murbei hitam ini memiliki profil difusi pasif yang baik karena bobot molekul kurang dari 500 Da. Hasil penambatan molekul senyawa aktif dari akar Murbei Hitam terhadap ER- α tidak terdapat senyawa uji dengan energi ikatan terendah yang dibandingkan dengan ligan alami 4-Hydroxytamoxifen. Sedangkan untuk ER- β terdapat 1 senyawa uji dengan energi ikatan terendah yang dibandingkan dengan ligan alami genistein yang sudah memenuhi persyaratan Lipinski's *rule of five*. Yang artinya senyawa dari akar Murbei Hitam (*Morus nigra* L.) dapat dibuat dalam bentuk sediaan oral.¹⁰

PreADME adalah satu prosedur yang dilakukan untuk memprediksi profil farmakokinetika terhadap senyawa-senyawa yang telah diketahui nilai fungsi skoringnya (KI dan ΔG). Data-data yang akan digunakan sebagai acuan untuk absorpsi yaitu HIA Human Intestinal Absorption, permeabilitas (Caco-2), dan Plasma Protein Binding. Sel Caco-2 digunakan untuk *in vitro* sehingga dapat diketahui

perjalanan obat melalui epitel intestinal yang berada dalam adenokarsinoma kolon manusia. HIA untuk *in vivo* yaitu nilai yang menghitung bioavailabilitas dan absorpsi dari rasio ekskresi seperti melalui urin, empedu, dan feses. Parameter HIA sangat penting bila sediaan obat akan dibuat oral, maka senyawanya diharapkan 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 70-100%, artinya tingkat absorpsi senyawa uji pada usus berada pada tingkat yang baik. Untuk senyawa Morachalcone A dengan energi terendah juga memiliki tingkat absorpsi yang baik.¹⁰ Dari hasil skrining farmakofor dan penambatan molekul senyawa yang diuji, seluruhnya memiliki keterikatan pada protein plasma yang kuat. Artinya, kandungan senyawa pada akar Murbei hitam ini tidak dapat berdifusi dengan baik menembus membran sel karena keterikatan dengan protein plasma rata-rata lebih dari 90% yang bermakna senyawa-senyawa tersebut tidak bebas atau terikat pada protein plasma.¹¹

Kandidat obat dari suatu senyawa perlu dilakukan uji toksisitas agar aman digunakan pada manusia. Untuk pengujiannya menggunakan uji Ames Toxicity pada *website* PreADMET. Ames Test merupakan metode yang memanfaatkan bakteri untuk menilai potensi mutagenik senyawa. Mutagen merupakan agen yang dapat menyebabkan Mutasi pada kromosom atau DNA dan perubahan pada informasi genetik. Sedangkan karsinogen ialah agen atau apa saja yang dapat memicu terjadinya kanker atau tumor.¹² Hasil pengujian toksisitas senyawa uji, diperoleh data 6 senyawa memiliki sifat mutagen serta 5 senyawa non mutagen dan 5 senyawa bersifat karsinogenik dan non karsinogen. Pada ER- α , Cudraflavone B mempunyai kemiripan terhadap 4-OHT dengan pharmacophore-fit score 60,84 namun tidak didukung dengan nilai ikatan energi yang lebih rendah terhadap ligan alami. Hal ini mungkin disebabkan oleh beberapa faktor seperti jarak ikatan, jenis ikatan dan jumlah ikatan yang terjadi. Sedangkan pada ER- β Morachalcone A mempunyai kemiripan farmakofor dengan Genistein dan didukung dengan nilai ikatan energi yang lebih rendah. Dilihat dari residu asam aminonya pun, Morachalcone A memiliki residu asam amino yang sama dengan ligan alaminya, artinya interaksi antara Morachalcone A dengan reseptor dapat stabil. Tetapi untuk senyawa uji 2,4,2',4'-tetrahydroxychalcone yang mempunyai kemiripan dengan pharmacophore-fit score 67,72 terhadap Genistein namun tidak didukung dengan nilai ikatan energi yang lebih rendah yaitu -8.91. Jika dibandingkan dengan Morachalcone A yang memiliki 4 ikatan hidrogen yang sama dengan ligan alami, sedangkan 2,4,2',4'-tetrahydroxychalcone diketahui memiliki 4 ikatan hidrogen yang berbeda dan memiliki jarak ikatan yaitu 2.4 kkal/mol sedangkan Morachalcone A yaitu 1.7 kkal/mol.

Kesimpulan

Berdasarkan pengujian skrining farmakofor dan penambatan molekul yang dilakukan pada 29 senyawa aktif dari akar Murbei hitam (*Morus nigra* L.) terhadap ER- α dan ER- β . Hasil yang diperoleh untuk ER- α didapatkan 8 senyawa hit. Namun saat dilakukan pengujian penambatan molekul tidak ditemukan senyawa uji yang memiliki nilai energi bebas lebih rendah dibandingkan dengan ligan alami 4-Hydroxytamoxifen. Sedangkan untuk ER- β didapatkan 6 senyawa hit. Kemudian dilakukan penambatan molekul hasilnya didapatkan 1 senyawa aktif yaitu morachalcone A dengan pharmacophore fit score lebih dari 50% dan nilai energi bebas -11,28 kkal/mol, yang memiliki nilai energi bebas lebih rendah dibandingkan dengan ligan alami Genistein. Dari hasil prediksi parameter absorpsi dan distribusi menunjukkan bahwa senyawa morachalcone A memiliki nilai Caco-2 cell sebesar 20,57 nm sec⁻¹, %HIA sebesar 86,7% dan %PPB sebesar 100%. Untuk pengujian toksisitasnya, morachalcone A bersifat non-mutagenik dan tidak bersifat karsinogenik. Hal ini menggambarkan bahwa morachalcone A mempunyai fungsi

sebagai calon senyawa baru antikanker payudara bila dibandingkan terhadap senyawa aktif dari akar Murbei hitam lainnya.

Daftar Pustaka

1. Soemitro MP, Kusumadjayanti N. Berani deteksi dini. *Healthy life*; 2018. 12–23 p.
2. Dewi GAT, Hendrati LY. Analisis risiko kanker payudara berdasar riwayat pemakaian kontrasepsi hormonal dan usia. *J Berk Epidemiol*. 2015;3(1):12–23.
3. Fei J, Zhou L, Liu T, Tang XY. Pharmacophore modeling, virtual screening, and molecular docking studies for discovery of novel Akt2 inhibitors. *Int J Med Sci*. 2013;10(3):265–75.
4. Hussain F, Rana Z, Shafique H, Malik A, Hussain Z. Phytopharmacological potential of different species of *Morus alba* and their bioactive phytochemicals: A review. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2017;7(10):950–6.
5. Inte: Ligand. Inte:ligand advanced molecular design. <http://www.inteligand.com/>. 2018.
6. Inte: Ligand. Inte:ligand creating a pharmacophore from a single protein-ligand complex. 2010.
7. Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI. Bulan peduli kanker payudara infodatin. Jakarta; 2016. 1–9 p.
8. Khaira Y N, Ramadhania ZM. Kandungan senyawa kimia Murbei Hitam (*Morus nigra* L.) dan efek farmakologinya. *Farmaka*. 2018;16(2):213–21.
9. Nursamsiar N, Surantaatmadja SI, Tjahjono DH. Absorption, distribution and toxicity prediction of curculigoside a and its derivative. In: *Proceedings of the 3rd international conference on computation for science and technology*. Atlantis Press; 2015.
10. Prasetiawati R, Zamri A, Barliana MI, Muchtaridi M. In silico predictive for modification of chalcone with pyrazole derivatives as a novel therapeutic compound for targeted breast cancer treatment. *J Appl Pharm Sci*. 2019;9(2):20–8.
11. Suparman E, Suparman E. Peranan estrogen dan progesteron terhadap kanker payudara. *J Biomedik*. 2014;6(3):141–8.
12. World Health Organization. International agency for research on cancer. iarc.who.int. 2018. p. 99–100.