

MOLECULAR DOCKING STUDY OF BULB OF BAWANG DAYAK (*Eleutherine Palmifolia* (L) Merr) COMPOUND AS ANTI SERVICAL CANCER

Tedjo Narko¹, Benny Permana², Riska Prasetiawati³, Dang Soni³, Faridhatul Khairiyah³

¹LAPI AU Lanud Husen Sastranegara

² Sekolah Farmasi-Institut Teknologi Bandung, Jl Ganesha No.10
Bandung 40132,

³ Fakultas MIPA-Universitas Garut, Jl. Jati No.42B, Tarogong, Garut

Korespondensi: Dang Soni (dang@uniga.ac.id)

ARTICLE HISTORY

Received: 15 Mei 2017

Revised: 2 Juni 2017

Accepted: 10 Juli 2017

Abstract

Cervical cancer is a cancer which occurs because of cervical epithelial cells undergo genetic mutation result in controlled cell division. Bulbs of bawang dayak are one of the typical Indonesian plants whose compounds have been studied, which is shown that has inhibits the growth of cervival cancer activity (HeLa Cell). The purpose of this research is to find a new compound candidates as anticervical cancer that derived from the compound of Bulbs of bawang dayak, so that it can be an alternative source of medicinal raw materials through molecularr docking methods on two receptors namely 5UUI and 3ERT. All of the compounds of bulbs of Bawang Dayak docked to target receptor using a program called AutoDock Tools. The method validation has been done with the value of RMSD (Root Mean Square Deviation) which is obtained 0,282Å and 0,436Å. Analysis of results of the docking of molecules shows that eleutherinoside compounds A can be predicted to have the best interaction with the value of energy bonds in the amount of -9,55 kkal/mol on the 5UU1 receptor and -7,63 on 3ERT receptor than comparative drugs 5 Flourourasil in the amount of -3,91 kkal/mol on the 5UU1 receptor and -4,20 on the 3ERT receptor. To preADME test Caco-2 cell has amount of 11,77 nm/sec; HIS has amount of 74,29%, and plasma protein bond has amount 66,28%. This compound also fulfills the rules of 5 Lipinski and not toxic.

Key words: Cervical cancer, compounds of bulbs of Bawang Dayak, molecular docking

STUDI PENAMBATAN MOLEKUL SENYAWA DARI UMBI BAWANG DAYAK (*Eleutherine Palmifolia* (L) Merr.) SEBAGAI OBAT ANTIKANKER SERVIKS

Abstrak

Kanker serviks adalah kanker yang terjadi karena sel epitel serviks mengalami mutasi genetik sehingga terjadi pembelahan sel yang tidak terkendali. Umbi bawang dayak merupakan salah satu tumbuhan khas Indonesia yang senyawanya telah diteliti menunjukkan aktivitas menghambat pertumbuhan

kanker serviks (sel HeLa). Tujuan penelitian ini yaitu untuk mendapatkan kandidat senyawa baru sebagai antikanker serviks yang berasal dari senyawa umbi bawang Dayak sehingga dapat menjadi alternatif sumber bahan baku obat melalui metode penambatan molekul pada dua reseptor yaitu 5UU1 dan 3ERT. Semua senyawa umbi bawang Dayak ditambatkan pada reseptor target menggunakan program AutoDock Tools. Validasi metode telah dilakukan dengan nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*) yang diperoleh 0,282Å dan 0,436Å. Analisis hasil penambatan molekul menunjukkan bahwa senyawa eleutherinoside A dapat diprediksi memiliki interaksi yang paling baik dengan nilai energi bebas (ΔG) sebesar -9,55 kkal/mol pada reseptor 5UU1 dan -7,63 pada reseptor 3ERT daripada obat pembanding 5 Fluorourasil sebesar -3,91 kkal/mol pada reseptor 5UU1 dan -4,20 kkal/mol pada reseptor 3ERT. Untuk uji preADME sel Caco-2 sebesar 11,77 nm/sec; HIA sebesar 74,29%; dan ikatan protein plasma sebesar 66,28%. Senyawa ini pun memenuhi aturan Lipinski serta tidak bersifat toksik.

Kata kunci: Kanker Serviks, Penambatan Molekul, Senyawa Umbi Bawang Dayak

Pendahuluan

Masalah kesehatan reproduksi yang menyebabkan kematian nomor dua pada wanita adalah kanker serviks.¹ Menurut WHO tahun 2017, kanker serviks adalah kanker paling umum kedua di antara wanita di seluruh dunia dan menyebabkan sejumlah besar kematian di wilayah Asia Tenggara. Hampir 200.000 kasus baru kanker serviks terjadi di negara anggota wilayah SEA (South East Asia) yaitu Indonesia. Pada tahun 2017, insiden yang terjadi hampir mencapai 32 per 100.000 jiwa dan tingkat kematian hampir 18 per 100.000 jiwa.² Sejumlah bukti menunjukkan bahwa penyebab tahap awal terbentuknya sel kanker serviks disebabkan oleh HPV (Human Papilloma Virus). Faktor-faktor lain yang terlibat bersama HPV dalam menginduksi karsinogenesis serviks yaitu hormon seks yang telah terbukti dalam meningkatkan ekspresi gen dari HPV 16 dan HPV 18. Selain itu, di sebagian besar kasus kanker serviks muncul karena paparan esterogen yang sebagian besar sensitif pada leher rahim.³

Telah diketahui bahwa reseptor ER α (Esterogen alfa) diperlukan dalam aktivitas karsinogenik esterogen dalam leher rahim dan esterogen yang memberikan tidak hanya untuk genesis tetapi juga untuk pemeliharaan serviks.⁴ Selain itu, terdapat sebuah protein yang juga terlibat dalam kanker serviks yaitu VHR (Vaccinia H1-related phosphatase). Kehilangan VHR menyebabkan penangkapan siklus sel dalam sel karsinoma HeLa, menunjukkan bahwa penghambatan VHR dapat menjadi pendekatan yang berguna untuk menunjukkan aktivitas antikanker dengan menghentikan pertumbuhan sel kanker tanpa efek merugikan pada sel normal.^{4,5}

Pengobatan kanker yang paling umum dilakukan adalah pembedahan, radioterapi dan kemoterapi, namun belum didapatkan hasil yang optimal dari ketiga jenis terapi tersebut dengan efek samping yang cenderung membahayakan pasien.⁶ Pemanfaatan antikanker alami adalah salah satu cara alternatif dengan menggunakan tanaman yang berpotensi untuk menghambat pertumbuhan sel kanker seperti tanaman bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L) Merr.).⁷ Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Roihatul Mutiah⁸ pada tahun 2017, potensi bawang dayak sebagai tanaman obat multifungsi sangat besar sehingga perlu ditingkatkan penggunaannya sebagai obat modern. Bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L) Merr.) merupakan salah satu tanaman yang mampu menghambat secara selektif pertumbuhan sel kanker serviks

HeLa. Adapun senyawa-senyawa yang terdapat pada tumbuhan bawang dayak diantaranya *Eleutherine*, *Eleutherinol*, *Eleutherol*, *Eleuthoside B*, *Isoeleutherine*, *Ziganein*, *Eletherinoside A*, *Eleutherinoside B*, *Eleuthoside C* dan *Erythrolaccin*.

Studi penambatan molekul (*molecular docking*) adalah suatu proses komputasi untuk mencari ligan yang cocok secara geometris dan energi terendah ke situs pengikatan protein. Metode ini merupakan salah satu metode yang digunakan untuk meniru peristiwa interaksi suatu molekul ligan dengan protein yang menjadi targetnya pada uji in vitro melalui simulasi model menggunakan komputer. *Molekular docking* sering digunakan untuk memprediksi afinitas dan aktivitas molekul kecil. Maka *molecular docking* memainkan peranan penting dalam desain obat secara rasional.⁹ Pada penelitian ini akan dilakukan penambatan molekul senyawa-senyawa dari umbi bawang dayak sebagai ligan sehingga untuk ditambatkan pada reseptor ER α (Esterogen alfa) dan reseptor VHR (Vaccinia H1-related phosphatase) sebagai rangkaian pencarian obat antikanker serviks.

Metode

Alat

Laptop Dell dengan spesifikasi Processor Intel® Core™ i®-2520 CPU @2.50GHz 2.50GHz RAM 4.00 GB dan HDD 250GB. Sistem Operasi Windows 10, 64-bit, dilengkapi dengan program MGL-Tools®, Discovery Studio Visualizer®, Notepad++®, serta situs Protein Data Bank, PubChem, Pre-ADMET dan Toxtree.

Bahan

Struktur tiga dimensi protein dari Reseptor ER α (Estrogen alfa) dan VHR (Vaccinia H-1 Related Phosphatase) yang didapat dari Protein Data Bank, metode kristalografi sinar-X dengan resolusi 2Å. Identitas makromolekul tersebut adalah 3ERT dan 5UU1 berformat (.pdb). Struktur tiga dimensi ligan yang digunakan adalah senyawa-senyawa dari tumbuhan bawang dayak yang diunduh dari PubChem dengan situs <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> dengan format (.sdf) kemudian dikonversi dengan menggunakan Discovery Studio Visualizer® menjadi bentuk .pdb

Prosedur Rinci

Preparasi Reseptor

Menggunakan program Discovery Studio Visualizer® dilakukan pemisahan antara makromolekul protein dengan residu seperti molekul air dan ligan alami. Hasil pemisahan tersebut disimpan dalam format .pdb.

Preparasi Senyawa Uji (Ligan)

Sebelum melakukan preparasi, dilakukan penentuan sifat fisikokimia senyawa berdasarkan Lipinski's Rule of Five. Senyawa uji yang digunakan adalah senyawa dari umbi Bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L) Merr.) yaitu senyawa *Eleutherine*, *Eleutherinol*, *Eleutherol*, *Eleuthoside B*, *Isoeleutherine*, *Ziganein*, *Eletherinoside A*, *Eleutherinoside B*, *Eleuthoside C* dan *Erythrolaccin* yang didapat melalui pengunduhan dari situs <http://PubChem.ncbi.nlm.nih.gov> dengan format .dpf kemudian senyawa yang diunduh dengan format .sdf kemudian dikonversi dengan bantuan program Discovery Studio Visualizer® menjadi senyawa dengan format .pdb.

Validasi Metode

Validasi metode dilakukan untuk mengetahui apakah program yang digunakan untuk penambatan molekul sesuai persyaratan atau tidak. Validasi metode *molecular docking* dilakukan dengan cara re-docking antara ligan bawaan dari reseptor target

menggunakan perangkat lunak Autodock Tools®. Analisis yang digunakan untuk mengevaluasi hasil validasi yaitu nilai RMSD, situs pengikatan yang ditemukan dan parameter yang digunakan dianggap valid jika hasil $RMSD \leq 2\text{\AA}$.

Penambatan Molekul

Persiapan Reseptor dan Struktur Uji

Dalam pengaturan program Autodock Tools®, dibuat folder kerja khusus dengan cara pilih (File > Prefences > Set > Start up directory > Set > Accept). Kemudian buka reseptor yang sudah dipreparasi, pilih (File > Read molecule > Open). Kemudian pada reseptor tersebut ditambahkan atom hidrogen ke gugus polar dengan cara memilih (Edit > Hydrogen > Add > Polar Only > OK), simpan dengan format .pdbqt dengan cara pilih (Macromolekul > Output > Save as PDBQT). Setelah itu dimasukkan senyawa uji (Ligand > Output > Open). Setelah senyawa dibuka, dilakukan pengecekan rotasi senyawa uji dengan melihat titik rotasi dan mengoreksi kebenaran rotasi senyawa ligan yang diuji dengan cara pilih (Ligand > Torsion tree > Choose rotation), simpan dengan format .pdbqt dengan cara pilih (Ligand > Output > save as PDBQT).

Mengatur Grid Box

Pengaturan Grid Box dilakukan dengan membuka menu Grid pada Autodock Tools®. Kemudian dipilih Macromolekul untuk reseptor yang digunakan dan Ligand dari senyawa uji yang telah disimpan dengan format (.pdbqt) dari pilihan Choose > Accept, Grid Box diatur dengan mengatur koordinat X, Y dan Z sesuai koordinat ligan alami, dan disimpan dengan format .gpf (Grid > Output > save GPF pada folder yang telah ditentukan).

Mengatur Parameter Docking

Dalam pengaturan parameter docking dilakukan dengan memilih menu Docking dan menentukan reseptor dan ligan uji yang digunakan dengan memilih makromolekul (Docking > Ligand > Choose > Select ligand > Choose > save as PDBQT > Accept) kemudian diatur parameter (Docking > Output > Lamarckian GA (4.2) > save pada folder yang telah ditentukan).

Running Docking

Setelah semua pengaturan docking selesai kemudian running bisa dilakukan dengan menggunakan Autogrid4 dan Autodock4. Proses dapat dilakukan secara langsung melalui program Autodock Tools®. Setelah running selesai akan dihasilkan output dengan format .dlg yang dapat dibuka dengan bantuan program Notepad++®, kemudian dilihat parameter yang dihasilkan berupa (ΔG dan Cluster) dan membandingkan hasil yang didapat satu dengan yang lainnya.

Analisis dan Visualisasi Penambatan Molekul

Hasil kalkulasi penambatan dapat dilihat pada output dalam format notepad++®. Penentuan konformasi ligan hasil penambatan dilakukan dengan memilih konformasi ligan yang memiliki energi ikatan yang paling rendah (posisi terbaik).

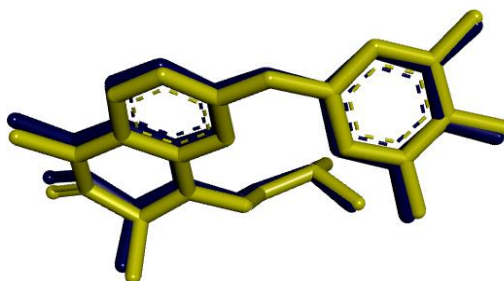
Posisi dan orientasi ligan tersebut pada makromolekul, serta asam-asam amino yang terikat pada ligan divisualisasikan dengan menggunakan perangkat lunak Discovery Studio Visualizer® untuk melihat interaksi ligan terhadap active binding site pada reseptor.

Pengujian Pre-ADME

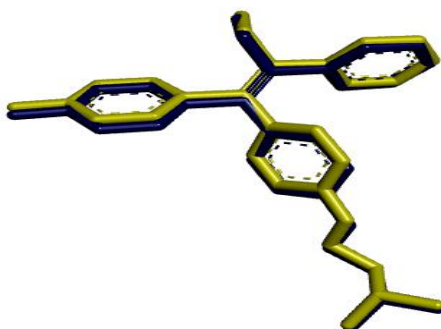
Pengujian yang dilakukan bertujuan untuk menganalisa parameter awal farmakokinetika yang meliputi absorpsi dan distribusi serta uji toksisitas yang meliputi

sifat mutagenik dan karsinogenik senyawa. Pengujian dilakukan dengan menggunakan program khusus yang dilakukan dengan menggunakan program khusus yang dilakukan secara online pada situs <http://preadme.bmdrc.kr/>. Struktur senyawa uji digambar dan kemudian diklik submit untuk dianalisa. Hasil yang didapat berupa data disimpan dalam format .pdb.

Hasil



Gambar 1. Visualisasi tumpang tindih ligan alami 5UU1 (Biru) dengan ligan hasil redocking (kuning)



Gambar 2. Visualisasi tumpang tindih ligan alami 3ERT (Biru) dengan ligan hasil redocking (kuning)

Tabel I. Grid Box, RMSD, Nilai Ikatan Energi, Ligan Alami, dan 5Fluorourasil

Kode PDB	Grid Box	RMSD	Ikatan Energi 5 Fluorourasil	Ikatan Energi Ligan Alami (kcal/mol)
5UU1	X : 0,539 Y : -18,004 Z : -13,408	0,282Å	-3,91	-8,79
3ERT	X : 30,282 Y : -1,913 Z : 24,207	0,435Å	-4,20	-10,64

Tabel II. Sifat Fisikokimia Senyawa Umbi Bawang Dayak Berdasarkan Aturan 5 Lipinski

Senyawa	BM (g/mol)	Log P	Donor Hidrogen	Akseptor Hidrogen	Refractory Molar	Ket
Eleutherine	272	2,33	0	4	72,37	Memenuhi
Eleutherinol	256	3,03	2	4	70,73	Memenuhi
Eleutherinoside A	418	0,51	4	9	103,46	Memenuhi
Eleutherinoside B	612	-1,10	9	15	143,91	Tidak memenuhi
Eleutherol	244	2,78	1	4	65,99	Memenuhi
Eleuthoside B	568	-1,91	7	14	131,35	Tidak memenuhi
Eleuthoside C	598	-1,42	8	14	141,85	Tidak memenuhi
Erytrolaccine	286	1,59	4	6	71,14	Memenuhi
Isoeleutherine	272	2,33	0	4	72,37	Memenuhi
Ziganein	254	2,18	2	4	67,82	Memenuhi

Tabel III. Hasil Penambatan Molekuler Senyawa Umbi Bawang Dayak (5UU1)

No.	Ligan	ΔG (kcal/mol)	Konstanta inhibisi (nM)
1	Ligan alami	-8,79	357,99
2	5 Fluorourasil	-3,91	-1,360
3	Eleutherine	-7,93	1,55
4	Eleutherinol	-7,10	6,29
5	Eleutherinoside A	-9,55	99,41
6	Eleutherinoside B	-6,67	12,87
7	Eleutherol	-6,42	19,71
8	Eleuthoside B	-8,80	355,69
9	Eleuthoside C	-8,57	522,60
10	Erytrolaccin	-7,70	2,27
11	Isoeleutherine	-7,60	2,67
12	Ziganein	-7,93	1,53

Tabel IV. Hasil Penambatan Molekuler Senyawa Umbi Bawang Dayak (3ERT)

No.	Ligan	ΔG (kkal/mol)	Konstanta inhibisi (nM)
1	Ligan alami	-10,64	15,97
2	5 Fluorourasil	-4,20	833,28
3	Eleutherine	-7,44	3,53
4	Eleutherinol	-7,49	1,38
5	Eleutherinoside A	-7,63	2,57
6	Eleutherinoside B	-7,19	5,41
7	Eleutherol	-6,82	21,56
8	Eleuthoside B	-8,49	596,68
9	Eleuthoside C	-6,82	10,06
10	Erytrolaccin	-7,22	5,14
11	Isoeleutherine	-7,23	5,04
12	Ziganein	-6,66	13,15

Tabel V. Hasil Analisis Ikatan Hidrogen dan Residu Asam Amino yang Terlibat (5UU1)

No.	Senyawa	Jumlah ikatan hydrogen	Residu asam amino
1	Liganalami	3 (GLU122, LEU124, LYS61)	GLU122, LEU124, LYS61, PRO101, LEU173, MET121, ALA185, VAL59, ILE35, ILE43
2	5 Fluorourasil	3 (GLU122, LEU124, ALA185)	GLU122, LEU124, ALA185, PRO101, VAL59
3	Eleutherine	1 (LYS61)	LYS61, GLY38, TYR77, MET121, ILE43, VAL59, LEU124, LEU173
4	Eleutherinol	2 (LYS61, LEU124)	LYS61, LEU124, LEU173, VAL59, ILE43, ALA185, MET121
5	Eleutherinoside A	5 (LYS61, LEU124, GLU122, ILE35, ASP127)	LYS61, LEU124, GLU122, ILE35, ASP127, GLY125, ILE43, VAL59, LEU173, PRO101, MET121, ALA185
6	Eleutherinoside B	4 (ASN171, ALA170, SER37, LEU124)	ASN171, ALA170, SER37, LEU124, ALA185, GLY38, VAL59, ILE43, ILE35, LEU173
7	Eleutherol	2 (ALA185, LEU124)	ALA185, LEU124, ARG123, ASP186, ILE43, LEU173, PRO101, MET121, VAL59
8	Eleuthoside B	4 (LEU124, ALA170, ASP124, GLY125)	LEU124, ALA170, ASP127, GLY125, SER37, ASP186, ALA185, LYS61, MET121, VAL59, ILE35, ILE43

9	Eleuthoside C	5 (GLU122, ALA185, GLY125, SER37, ALA170)	GLU122, ALA185, GLY125, SER37, ALA170, ILE35, ALE43, VAL59, ILE126
10	Erytrolaccine	3 (ALA185, GLU122, LEU124)	ALA185, GLU122, LEU124, ILE35, ARG123, VAL59, ILE43, LEU173
11	Isoeleutherine	1 (LYS61)	LYS61, LEU173, VAL59, LEU124, ILE43, MET121
12	Ziganein	2 (ALA185, LEU124)	ALA185, LEU124, MET121, PRO101, ILE35, ILE43

Tabel VI. Hasil Analisis Ikatan Hidrogen dan Residu Asam Amino yang Terlibat (3ERT)

No.	Senyawa	Jumlah ikatan hydrogen	Residu asam amino
1	Ligan alami	2 (GLU353, ARG394)	GLU353, ARG394, ILE424, MET421, LEU525, ASP351, LEU346, MET343, LEU387, LEU391, ALA350
2	5 Fluorourasil	2 (ARG412, MET421)	ARG412, MET421, PHE425, LYS416, ASP426
3	Eleutherine	-	MET288, LEU391, LEU387, LEU346, MET343, LEU525, HIS 524, MET421
4	Eleutherinol	3 (ARG394, GLU353, LEU346)	ARG394, GLU353, LEU346, MET343, MET388, LEU428, MET421, ILE424, LEU387, ALA350
5	Eleutherinoside A	3 (GLU353, LEU346, THR347)	GLU353, LEU346, THR347, ALA350, TRP383, MET528, MET343, LEU525
6	Eleutherinoside B	4 (LEU387, MET343, THR347, ASP351)	LEU387, MET343, THR347, ASP351, ILE424, LEU428, LEU391, MET421, GLU355
7	Eleutherol	1 (ARG394)	ARG394, LEU428, MET388, LEU391, MET421, LEU346, LEU349
8	Eleuthoside B	3 (ASP351, THR347, GLU353)	ASP351, THR347, GLU353, MET343, LEU387, LEU384, MET421, ALA350
9	Eleuthoside C	3 (THR347, ASP351, LEU384)	THR347, ASP351, LEU387, MET343, ILE424, LEU428, LEU384, ALA350, GLU353, MET388
10	Erytrolaccin	3 (ARG394, GLU353, THR347)	ARG394, GLU353, THR347, ALA350, LEU525, LEU428, MET388, LEU391, LEU387
11	Isoeleutherine	-	LEU387, MET388, LEU391, GLU353, LEU346, MET343, LEU525, HIS524, MET421
12	Ziganein	1 (LEU346)	LEU346, LEU525, MET343, MET421, HIS524, LEU349

Tabel VII. Uji PreADME (Absorpsi dan Distribusi) Senyawa Umbi Bawang Dayak dan Obat Perbandingan

No	Senyawa	Caco-2 (nm.sec ⁻¹)	HIA (%)	<i>Protein Plasma Binding (%)</i>
1	Ligan alami (7DZ)	31,99	97,61	86,31
2	Ligan alami (4-hidroxytamoxifen)	26,30	93,56	64,42
3	5 Fluorourasil	31,56	96,55	73,55
4	Eleutherine	31,31	98,22	85,69
5	Eleutherinol	21,30	93,03	95,80
6	Eleutherinoside A	11,77	74,29	66,28
7	Eleutherinoside B	8,42	70,79	32,34
8	Eleutherol	8,48	95,51	86,01
9	Eleuthoside B	15,72	74,29	36,78
10	Eleuthoside C	9,51	76,39	30,95
11	Erytrolaccine	20,81	75,72	98,62
12	Isoeleutherine	31,31	98,22	85,69
13	Ziganein	20,93	92,59	96,84

Tabel VIII. Uji Toksisitas Senyawa Umbi Bawang Dayak dan Obat Perbandingan

No	Senyawa Ligan	Kroes TTC decision tree
1	Ligan alami (7DZ)	1
2	Ligan alami (4-hidroxytamoxifen)	2
3	5 Fluorourasil	2
4	Eleutherine	2
5	Eleutherinol	2
6	Eleutherinoside A	1
7	Eleutherinoside B	1
8	Eleutherol	1
9	Eleuthoside B	1
10	Eleuthoside C	1
11	Erytrolaccin	2
12	Isoeleutherine	2
13	Ziganein	2

Pembahasan

Struktur reseptor VHR diunduh dari situs PDB dengan kode 5UU1 sedangkan struktur reseptor ER α (Estrogen alfa) diunduh dengan kode 3ERT. Sebelum dilakukan penambatan molekul dengan senyawa uji, terlebih dahulu dilakukan validasi dengan cara memisahkan ligan alami dari reseptornya dengan Discovery Studio Visualizer® kemudian ditambatkan kembali menggunakan AutoDock Tools® untuk mendapatkan nilai RMSD.

Nilai RMSD yang diperoleh dari reseptor dengan kode 5UU1 adalah 0,282Å dan kode 3ERT adalah 0,436Å. Metode docking dikatakan valid jika memiliki nilai RMSD \leq 2Å. RMSD (Root Mean Square Deviation) adalah parameter yang digunakan untuk mengevaluasi kemiripan dua buah struktur.¹⁰ Nilai RMSD yang semakin kecil menunjukkan posisi ligan hasil re-docking yang makin mendekati posisi ligan kristalografi.¹¹

Ligan yang digunakan dalam penelitian ini adalah senyawa dari umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L) Merr.). Struktur tiga dimensi ligan diunduh dari situs PubChem kemudian disimpan dalam format (.pdb) untuk dapat ditambatkan ke reseptor target.

Sebelum dilakukan proses penambatan, terlebih dahulu dipersiapkan parameter yang dibutuhkan untuk melakukan penambatan yaitu parameter grid (Grid Parameter File) dan parameter penambatan (Docking Parameter File). Pengaturan grid meliputi penentuan koordinat dan volume. Koordinat yang digunakan dalam penambatan molekul pada reseptor VHR yakni dengan pusat koordinat (X,Y,Z) berturut-turut yaitu 0.539, -18.004 dan -13.408. Sedangkan pada reseptor ER α yakni dengan pusat koordinat (X,Y,Z) berturut-turut yaitu 30.282, -1.913, dan 24.207. Volume grid penambatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 40 x 40 x 40 Å dengan spacing 0,375. Pada parameter penambatan, dilakukan perubahan pada Number of GA Runs menjadi 100. Setiap Number of GA Runs digunakan Maximum Number of Evaluation Medium, yaitu 2.500.000.

Parameter yang diamati untuk penentuan afinitas senyawa uji terhadap reseptor adalah nilai ikatan energi (ΔG), konstanta inhibisi (K_i), dan residu asam amino. Afinitas senyawa uji terhadap reseptor ditentukan oleh nilai ikatan energi dan konstanta inhibisi. Semakin negatif nilai ikatan energi dan semakin kecil nilai konstanta inhibisi menunjukkan afinitas ligan yang semakin tinggi.¹² Selain itu juga, diamati hasil visualisasi penambatan serta interaksi yang terjadi.

Drug-likeness mengacu pada kemiripan suatu senyawa dengan obat oral. Metode yang digunakan untuk mengevaluasi drug-likeness yaitu menggunakan aturan Lipinski's Rule of Five. Aturan tersebut menetapkan bahwa molekul obat harus mempunyai massa molekul relatif \leq 500 g/mol, nilai Log P \leq 5, donor ikatan hidrogen \leq 5, akseptor hidrogen \leq 10, dan refractory molar antara 40-130.¹³

Nilai berat molekul berkaitan dengan proses distribusi obat. Proses distribusi obat terjadi dengan cara menembus membran biologis. Berbeda dengan obat yang memiliki bobot molekul kecil akan memudahkan untuk menembus membran biologis.¹³

Nilai Log P berkaitan dengan lipofilitas atau hidrofobisitas yaitu kemampuan suatu senyawa kimia untuk larut dalam lemak, minyak, lipid, dan pelarut non polar. Dalam konteks farmakokinetik, untuk obat yang diabsorpsi melalui oral, secara normal harus melewati lipid bilayer dalam epithelium intestinal. Agar sistem transport efisien, obat harus cukup hidrofobik untuk menembus ke dalam lipid bilayer, tetapi tidak boleh terlalu hidrofobik karena jika obat sudah masuk ke dalam lipid bilayer, tidak dapat menembus keluar lagi yang akan menyebabkan obat tersebut toksik karena bertahan lebih lama di dalam tubuh.¹³

Nilai donor dan akseptor ikatan hidrogen berhubungan dengan aktivitas biologis dari suatu molekul obat. Ikatan hidrogen dapat mempengaruhi sifat-sifat kimia-fisika senyawa, seperti titik didih, titik lebur, kelarutan dalam air, perubahan sifat-sifat tersebut dapat berpengaruh terhadap aktivitas biologis senyawa. Refractory molar merupakan suatu nilai total polarisabilitas dari molekul obat yang sangat bergantung pada suhu, indeks bias dan tekanan.¹³

Berdasarkan aturan Lipinski's Rule of Five hampir semua senyawa umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L) Merr.) memenuhi aturan kecuali senyawa Eleutherinoside B, Eleuthoside B, dan Eleuthoside C sehingga dapat diprediksi bahwa hampir semua senyawa dari umbi bawang dayak memiliki absorpsi yang baik digunakan sebagai sediaan oral kecuali Eleutherinoside B, Eleuthoside B, dan Eleuthoside C.

Analisis senyawa uji yang telah ditambatkan dengan reseptor target dilihat melalui skor penambatan dan melalui visualisasi dengan melihat residu asam amino dan jumlah ikatan hidrogen yang terbentuk dari hasil intraksi dengan masing-masing senyawa uji dan reseptor target. Skor berupa nilai ikatan energi dan konstanta inhibisi, dapat dilihat pada berkas .dlg yang merupakan keluaran berkas pada hasil AutoDock.

Semakin rendah nilai ikatan energi menunjukkan semakin stabilnya ikatan antara ligan dan reseptor target. Sedangkan, semakin rendah nilai konstanta inhibisi, maka penghambatan yang ditunjukkan oleh ligan terhadap aktivitas reseptor target semakin efektif.

Analisis secara visual dilakukan dengan membandingkan interaksi antara senyawa uji dengan residu asam amino dan ikatan hidrogen pada reseptor target. Analisis dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak Discovery Studio Visualizer® untuk melihat residu asam amino dan ikatan hidrogen yang terbentuk.

Dari 10 senyawa uji yang ditambatkan, senyawa Eleutherinoside A merupakan senyawa yang memiliki nilai ikatan energi paling rendah yaitu terhadap reseptor 5UU1 sebesar -9,55 kkal/mol dengan nilai konstanta inhibisi 99,41 nM dan pada reseptor 3ERT sebesar -7,63 kkal/mol dengan nilai konstanta inhibisi 2,57 nM sedangkan nilai ikatan energi 5 Fluorourasil sebagai ligan pembanding terhadap reseptor 5UU1 adalah -3,91 kkal/mol dengan konstanta inhibisi sebesar 1,360 nM dan terhadap reseptor 3ERT sebesar -4,20 kkal/mol dengan nilai konstanta inhibisi 833,28 nM. Serta nilai ikatan energi ligan alami dari reseptor 5UU1 adalah -8,79 kkal/mol dengan konstanta inhibisi 357,99 nM dan dari reseptor 3ERT adalah sebesar -10,64 kkal/mol dengan konstanta inhibisi 15,97 nM. Hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa Eleutherinoside A memiliki nilai ikatan energi lebih rendah dari 5 Fluorourasil, artinya senyawa tersebut diprediksi memiliki interaksi yang lebih baik terhadap reseptor VHR dan ER α dibandingkan 5 Fluorourasil dan merupakan senyawa uji terbaik pada penelitian ini sehingga bisa dijadikan sebagai calon kandidat obat antikanker serviks

Berdasarkan data yang telah dihasilkan, terdapat interaksi antara ligan alami dari reseptor 5UU1 dengan residu asam amino dimana ada 3 ikatan hidrogen dan interaksi antara ligan alami dari reseptor 3ERT dengan residu asam amino yaitu ada 2 ikatan hidrogen. Sedangkan 5 Fluorourasil terhadap reseptor 5UU1 memiliki 3 ikatan hidrogen dan terhadap reseptor 3ERT memiliki 2 ikatan hidrogen. Senyawa uji terbaik terhadap reseptor 5UU1 memiliki 5 ikatan hidrogen dan terhadap reseptor 3ERT memiliki 3 ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen merupakan ikatan antar atom H yang mempunyai muatan positif dengan atom lain yang bersifat elektronegatif seperti O, N, F.¹⁴

Hasil penambatan 5 Fluorourasil terhadap reseptor 5UU1 menunjukkan ikatan hidrogen dengan residu asam amino GLU122, LEU124, ALA185, dan penambatan 5 Fluorourasil terhadap reseptor 3ERT menunjukkan ikatan hidrogen dengan residu asam amino ARG412 dan MET421. Sedangkan untuk hasil penambatan senyawa uji

Eleutherinoside A terhadap reseptor 5UU1 menunjukkan ikatan hidrogen dengan asam amino LYS61, LEU124, GLU122, ILE35, dan ASP127. Serta terhadap reseptor 3ERT menunjukkan ikatan hidrogen dengan asam amino GLU353, LEU346, dan THR347.

Untuk memprediksi profil farmakokinetik (absorpsi dan distribusi) senyawa umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L) Merr.). Prediksi parameter absorpsi dan distribusi dapat diakses melalui situs <http://preadmet.bmdrc.org/>. Struktur kimia dari senyawa digambar kemudian diklik submit, secara otomatis program akan menghitung dan menampilkan nilai prediksi dari parameter-parameter tersedia.

Prediksi absorpsi obat dikaji berdasarkan kemampuan obat terabsorpsi pada usus HIA (Human Intestinal Absorption) dan kemampuan permeabilitas pada sel Caco-2. Sel Caco-2 merupakan model *in vitro* untuk mengetahui transport obat melalui epitel intestinal yang berasal dari adenocarcinoma kolon manusia yang memiliki jalur transportasi ganda. HIA merupakan penjumlahan dari bioavailabilitas dan absorpsi yang dievaluasi dari rasio ekskresi melalui urin, empedu dan feses.¹⁵

Parameter distribusi yang diprediksi berdasarkan keterikatan pada protein plasma. Pada umumnya hanya obat dalam bentuk tidak terikat yang dapat berdifusi menembus membran sel dan berinteraksi dengan target farmakologi sehingga ikatan protein plasma berperan penting dalam efikasi obat. PPB (Plasma Protein Binding) merupakan fraksi obat yang tersedia dalam bentuk bebas untuk didistribusikan ke berbagai jaringan.¹⁵

Semua senyawa dari umbi bawang dayak memiliki nilai Caco-2 yang berada pada rentang 4-70 (Medium permeability), dan memiliki nilai HIA yang berada pada rentang 70-100%. Artinya semua senyawa dari umbi bawang dayak dapat terabsorpsi dengan baik.

Profil distribusi berdasarkan keterikatan pada protein plasma menunjukkan bahwa beberapa senyawa umbi bawang dayak terikat kuat pada protein plasma karena memiliki nilai PPB lebih dari 90% seperti Eleutherinol, Erytrolaccin dan Ziganein sehingga diprediksi memiliki kemampuan terdistribusi yang kurang dalam tubuh, namun sebagian besar tidak terikat kuat pada protein plasma sehingga dapat diprediksi sebagian besar senyawa umbi bawang dayak memiliki kemampuan terdistribusi yang baik dalam tubuh.

Prediksi toksisitas dilakukan dengan menggunakan program Toxtree®. Uji ini digunakan memprediksi tingkat toksisitas dari suatu senyawa bagi tubuh manusia. Pada uji menggunakan parameter Kroes TTC decision tree untuk memperkirakan ambang batas paparan senyawa obat pada manusia.

Berdasarkan parameter Kroes TTC decision tree hampir semua senyawa dari umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L) Merr.) memiliki nilai ambang batas paparan yang aman, sedangkan beberapa senyawa umbi bawang dayak (*Eleutherine*, *Eleutherinol*, *Erytrolaccin*, *Isoeleutherine*, dan *Ziganein*) memiliki nilai ambang batas paparan yaitu tidak lebih dari 5 µg/hari. Ini didasarkan pada analisis data dosis-respon untuk senyawa karsinogenik.¹⁶

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa senyawa Eleutherinoside A terhadap reseptor 5UU1 memiliki nilai ikatan energi sebesar -9,55 kkal/mol dengan konstanta inhibisi 99,41 nM, senyawa Eleutherinoside A terhadap reseptor 3ERT memiliki nilai ikatan energi sebesar -7,63 kkal/mol dengan konstanta inhibisi 2,57 nM yang lebih baik dibandingkan 5 Fluorourasil sebagai obat pembanding dengan nilai ikatan energi sebesar -3,91 kkal/mol dengan konstanta inhibisi 1,360 nM pada reseptor 5UU1 dan 5 Fluorourasil yang memiliki nilai ikatan energi sebesar -4,20 kkal/mol dengan konstanta inhibisi 833,28 nM pada reseptor 3ERT. Senyawa

Eleutherinoside A selain memenuhi aturan Lipinski's rule of Five, juga memiliki nilai absorpsi dan distribusi yang baik, serta memiliki nilai uji toksisitas ambang batas paparan yang aman.

Daftar Pustaka

1. Umriati, Rapita SN. Hubungan Pengetahuan dan Sikap Tentang Kanker Serviks Dengan Niat Melakukan Deteksi Dini Kanker Serviks Pada Wanita Usia Subur di Kelurahan Kagok Slawi Kabupaten Tegal. *Jurnal Siklus*. 2015;13:245.
2. WHO. *Cervical Cancer Screening and Management of Cervical Pre-cancer*. 2017.
3. Susmi F. Study Docking Molekular Senyawa Asam Sinamat dan Derivatnya Sebagai Inhibitor Protein 1J4X Pada Sel Kanker Serviks. *Jurnal Kimia Mulawarman*. 2017;4(2):84.
4. Nursalam H, Ahmad N, Fatmawati S. Studi Farmakofor Reseptor Esterogen Alfa Sebagai Target Terapi Kanker Serviks. *JF FIK UINAM*. 2014;2:133-4.
5. Jiz YW, Chi LY, Hsiao C, Chi HY, Yu NF, Ya TC. Vaccinia H-1 Related Phosphatase of ErbB Receptors and Is Down-Regulated in Non-Small Cell Lung Cancer. *The Journal of Biological Chemistry*. 2011;286:10177.
6. Novi Vidi Y. Hubungan Tingkat Pengetahuan Ibu Tentang Kanker Serviks Dengan Prilaku Ibu Dalam Melakukan Tes Pap Smear. Tugas Akhir Sarjana Kedokteran. Fakultas Kedokteran. Jakarta: UIN; 2013.
7. Syarif H. Efektivitas Ekstrak Bawang Dayak (*Eleutherine Palmifolia* (L) Merr.) Dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. Tugas Akhir Sarjana Kedokteran. Jakarta; UIN; 2014.
8. Rohiatul M, Anik L, Arief S. Aktivitas Antikanker Kombinasi Ekstrak Benalu Belimbing (*Macrosolen cochinchinensis*) dan Bawang Sabrang (*Eleutherine Palmifolia* (L) Merr.) Pada Sel Kanker Serviks. *Traditional Medicine jurnal*. 2015;22(3)
9. Motiejunas, D., R C Wade. *Structural, energetic, and dynamic aspects of ligand-receptor interactions*. Elsevier. 2007; 193-4.
10. Rohimah S, Kurniasih ELI. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada Volume 13 Nomor 1 Februari 2015*. *J Kesehat Bakti Tunas Husada*. 2015;13:213–27.
11. Bissantz C, Folkers G, Rognan D. Protein-Based Virtual Screening of Chemical Databases . 1 . Evaluation of Different Docking / Scoring Combinations. *Nature*. 2000;4759–67.
12. Brooks BR, III CLB, A. D. Mackerell J, Nilsson L, Petrella RJ, Roux B, et al. CHARMM: The Biomolecular Simulation Program B. *J Comput Chem*. 2009;30(10):1545–614.
13. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery and Development Settings. *Adv Drug Deliv Rev*. 1997;23:3–25.

14. Głowacki ED, Irimia-Vladu M, Bauer S, Sariciftci NS. Hydrogen-bonds in molecular solids-from biological systems to organic electronics. *J Mater Chem B*. 2013;1(31):3742–53.
15. Nursamsiar. Studi In Silico Senyawa Turunan Analog Kalkon Dan Pirimidin Sebagai Antinflamasi: Prediksi Absorpsi, Distribusi, Dan Toksisitas. 2016;13.
16. Wibowo DA, Zen DN. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada* Volume 17 Nomor 2 Agustus 2017. 2013;2(1):1385.