

***DOCKING* SENYAWA BAHAN ALAM GOLONGAN
ALKALOID TERHADAP PROTEIN GLIOMA (GLI) DENGAN
MENGUNAKAN PLANTS®**

**KUANDI TANDIARA TAN
N111 09 280**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2013**

**DOCKING SENYAWA BAHAN ALAM GOLONGAN ALKALOID
TERHADAP PROTEIN GLIOMA (GLI) DENGAN MENGGUNAKAN
PLANTS®**

SKRIPSI

**untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**

**KUANDI TANDIARA TAN
N111 09 280**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2013**

PERSETUJUAN

***DOCKING* SENYAWA BAHAN ALAM GOLONGAN ALKALOID TERHADAP PROTEIN GLIOMA (GLI) MENGGUNAKAN *PLANTS*[®]**

**KUANDI TANDIARA TAN
N111 09280**



Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pertama,

**Yusnita Rifai, S.Si., M.Pharm., Ph.D., Apt
NIP.19751117200012 2001**

**Prof.Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt
NIP. 196412311990021005**

Pada Tanggal : 24 Juli 2013

PENGESAHAN

**DOCKING SENYAWA BAHAN ALAM GOLONGAN ALKALOID
TERHADAP PROTEIN GLIOMA (GLI) MENGGUNAKAN
PLANTS[®]**

Oleh :
KUANDI TANDIARA TAN
N111 09 280

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
Pada Tanggal : 26 Juli 2013

Panitia Penguji Skripsi

1. Ketua

Prof.Dr.Hj. Asnah Marzuki, M.Si., Apt. :

2. Sekretaris

Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt. :

3. Ex Officio

Yusnita Rifai, S.Si., M.Pharm., Ph.D., Apt. :

4. Ex Officio

Prof.Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt :

5. Anggota

Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., Apt. :

Mengetahui :

**Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Hasanuddin**

Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA., Apt.
NIP. 19560114 198601 2 001

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah karya saya sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau di-terbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila dikemudian hari terbukti bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi dan gelar yang diperoleh, batal demi hukum.

Makassar, Juli 2013

Penyusun,

Kuandi Tandiara Tan

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur dipanjatkan kepada Tuhan Yang Maha Kuasa, atas berkat dan rahmatNya, penulis mampu merampungkan penyusunan skripsi ini sebagai salah satu syarat dalam memperoleh gelar kesarjanaan pada Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Banyak kendala yang penulis hadapi dalam penyusunan skripsi ini, namun berkat dukungan dan bantuan dari berbagai pihak, akhirnya penulis dapat melewati kendala-kendala tersebut. Oleh karena itu, penulis menghaturkan banyak terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada:

1. Ibu Yusnita Rifai, S.Si., M.Pharm., Ph.D., Apt. sebagai pembimbing utama yang telah memberikan arahan, nasihat, dan solusi-solusi dengan penuh kesabaran dan keramahan serta dorongan agar penulis segera menyelesaikan studi, serta Bapak Prof. Dr. Gemini Alam M.Si., Apt. sebagai pembimbing pertama sekaligus penasihat akademik atas bimbingan, arahan dan motivasinya mulai dari pengurusan Kartu Rencana Studi, hingga penelitian dan skripsi penulis selesai. Penulis menyadari skripsi dan penelitian ini mungkin tidak akan selesai dengan cepat jika beliau tidak henti-hentinya mengingatkan penulis untuk cepat menyelesaikan studi.
2. Ibu Prof.Dr. Asnah Marzuki, M.Si., Apt ; Dr. Herlina Rante, S.Si., M.Si., Apt ; dan Ibu Nurhasni Hasan, S.Si., M.Si., Apt. selaku penguji penulis.

3. Dekan, Wakil Dekan, serta staf dosen Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas bantuan serta motivasi-motivasi yang diberikan dalam kelancaran selesainya penyusunan skripsi ini.
4. Kedua orang tua tercinta, ayah Anom Wirawan Tan dan ibu Oei Suk Ing, atas segala pengorbanan moril, materil, kasih sayang, serta ketulusan hati mendoakan penulis sehingga bisa menyelesaikan kuliah sampai saat ini.
5. Saudara-saudara penulis (Viki Yulianti W.T., SE., Venny Yusnita T., SE., dan Renny T.Tan), atas dukungan, bimbingan, canda tawa, dan kasih sayang kalian selama ini. Semoga kita senantiasa menjadi anak yang berbakti, memberikan yang terbaik untuk orang tua kita dan tetap saling menyayangi.
6. Teman-teman farmasi angkatan 2009 (GINKGO '09) terkhusus Nurhadri Azmi, S.Si., Satria P. Penarosa S.Si., Kiki Husein, Nurul Haq, Mutmainnah, S.Si., Helmi N., S.Si., Nur Afni, S.Si., Whyllies A.W., Nurfitrianti, S.Si., dan Annisyah W.M., S.Si. atas segala bantuan, waktu, dan menjadi tempat keluh kesah penulis dari awal hingga akhir jenjang pendidikan ini.
7. Saudara-saudara seperjuangan yaitu Harold B. Tani, S.Si. dan Amal Rezka P., S.Si. atas dukungan, kebersamaan, dan semangat yang diberikan hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
8. Teman-teman penelitian yaitu Cahyadi Go Utomo, S.Si., Andika, S.Si., Agus Wahyudi, S.Si., Ester Carolina, dan Hanae Mori atas bimbingan,

arahan, dan saran-saran yang diberikan serta telah memberikan dorongan tanpa henti agar penulis secepatnya “mengejar” ketertinggalan dan cepat menyusul teman-teman agar dapat menyelesaikan studi bersama-sama dan tepat waktu.

9. Laboran Fakultas Farmasi Kimia Farmasi, terkhusus Bu Adriana Pidun, kak Dewi Primayanti dan seluruh korps asisten kimia farmasi (Hermanto Utomo, S.Si., Ferliem, S.Si., Apt., Muh. Tri Hidayat, S.Si., A.Padariani U., A.Rezkiani B., S.Si., Dian Cikhita, Desi Rosanti, S.Si., Amelia, S.Si., Adelin, S.Si.) terima kasih telah memberi bantuan atas segala kesulitan yang dihadapi penulis mulai dari awal hingga akhir penelitian.
10. Cynthia Frans, terima kasih atas dukungan semangat dan motivasi yang diberikan kepada penulis.
11. Kepada pihak yang tidak sempat disebut namanya. Semoga Tuhan membalas semua kebaikan kalian selama ini.

Penulis menyadari bahwa karya tulis ini sangat jauh dari kesempurnaan, karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun demi terciptanya suatu karya yang lebih bermutu. Akhirnya, semoga karya kecil ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan ke depannya.

Makassar, Juli 2013

Penulis

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian dengan tujuan untuk mengetahui senyawa-senyawa antikanker dari bahan alam golongan alkaloid yang memiliki afinitas dan konformasi kimia terbaik terhadap protein glioma (GLI) dengan menggunakan metode docking PLANTS[®]. Target yang dievaluasi merupakan skor PLANTS[®] dan ikatan hidrogen. Program yang digunakan adalah PLANTS[®] (*Protein-Ligand Ant System*). Ligan yang digunakan sebanyak 27 ligan dan cyclopamine sebagai ligan pembanding yang terdapat dalam protein dengan perolehan nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*) 1,614 Å serta staurosporinone yang diketahui sebagai penghambat GLI. Setiap ligan di docking pada protein GLI dengan kode PDB 2GLI dengan menggunakan dua metode yakni GLI lingkungan berair dan tanpa air. Skor PLANTS[®] untuk ligan Cyclopamine pada metode pertama dan kedua yakni -73,9002 dan -73,2700. Diperoleh hasil enam ligan yakni camptochecin, homoharringtonine, pancracristine, sanguinarine, evodiamine, dan vinblastine menunjukkan skor PLANTS[®] yang mendekati skor ligan cyclopamine tetapi ikatan hidrogen tidak mirip dengan ligan pembanding. Pada ligan evodiamine dan staurosporinone memiliki ikatan hidrogen terhadap asam amino protein GLI yang sama yaitu pada GLU 175 dan THR 173 sehingga diprediksi mempunyai mekanisme kerja yang sama sebagai penghambat GLI.

ABSTRACT

This research was aimed to know the best affinity and the best chemical conformation of anticancer compounds from natural product alkaloids group using PLANTS[®] docking method. Evaluated target was included the interaction energy and hydrogen bond. PLANTS[®] (Protein-Ligand Ant System) was used by this research. Twenty seven ligands and cyclopamine as native ligand, which was in protein and got RMSD (*Root Mean Square Deviation*) score 1,614 Å and staurosporinone was known GLI inhibitor. Each ligand was docked in GLI with PDB code 2GLI using 2 methods, GLI contain water and without water. PLANTS[®] score for native ligand in first and second method is -73,9002 and -73,2700. There respectively were around six ligands camptothecin, homoharringtonine, pancracristine, sanguinarine, evodiamine, dan vinblastine shown PLANTS[®] score to reach cyclopamine score but its hydrogen bond interaction differed from native ligand interaction. But evodiamine and staurosporinone ligand had hydrogen bond to the same amino acid of protein GLI, which in GLU 175 and THR 173 so that was predicted to have the same mechanism as GLI inhibitor.

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PERSETUJUAN.....	iii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iv
LEMBAR PERNYATAAN	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1 Kanker.....	4
II.2 Jalur Signal Hedgehog.....	5
II.3 Senyawa Bahan Alam Golongan Alkaloid	7
II.4 Docking dan Skoring	12
II.5 PLANTS [®]	17
II.6 Marvin-Beans Chemaxon [®]	18
II.7 YASARA [®]	18

II.8 MMV (<i>Molegro Molecular Viewer</i>)	19
BAB III METODE PENELITIAN	21
III.1 Data yang Digunakan.....	21
III.2 Alat yang Digunakan	23
III.3 Pengambilan Data	23
III.4 Pemodelan Molekul Senyawa dari Bahan Alam Golongan Alkaloid	23
III.5 Simulasi Docking Senyawa Antikanker dari Bahan Alam Golongan Lignan pada Model GLI.....	23
III.6 Analisis Data	24
III.7 Pembahasan Hasil Penelitian	24
III.8 Pengambilan Kesimpulan	24
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	25
BAB V PENUTUP	32
V.1 Kesimpulan	32
V.2 Saran	32
DAFTAR PUSTAKA	33
LAMPIRAN	37

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Data Senyawa-Senyawa Dari Bahan Alam Golongan Alkaloid.....	21
2. Data Hasil Docking Senyawa Bahan Alam Golongan Alkaloid terhadap GLI menggunakan PLANTS [®]	28
3. Data Analisis Hasil Docking Konformasi Terbaik Senyawa Bahan Alam Golongan Alkaloid Dalam Lingkungan Tak Berair menggunakan MMV	45
4. Data Analisis Hasil Docking Konformasi Terbaik Senyawa Bahan Alam Golongan Alkaloid Dalam Lingkungan Berair menggunakan MMV	48

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Jalur Signal Hedgehog pada sel normal (A) dan sel kanker (B).....	6
2. Data struktur GLI yang diperoleh dari RSCB Protein Data Bank	23
3. Pose ligand Cyclopamine dan pose prediksi <i>docking</i>	28
4. Interaksi Cyclopamine dengan Protein Glioma (GLI) dalam lingkungan tak berair.....	51
5. Interaksi Staurosporinone dengan Protein Glioma (GLI) dalam lingkungan tak berair.....	52
6. Interaksi Evodiamine dengan Protein Glioma (GLI) dalam lingkungan tak berair.....	52
7. Interaksi Camptotechnin dengan Protein Glioma (GLI) dalam lingkungan tak berair.....	53
8. Interaksi Homoharringtonine dengan Protein Glioma (GLI) dalam lingkungan tak berair.....	52
9. Interaksi Pancracristine dengan Protein Glioma (GLI) dalam lingkungan tak berair.....	54
10. Interaksi Sanguinarine dengan Protein Glioma (GLI) dalam lingkungan tak berair.....	54
11. Interaksi Vinblastine dengan Protein Glioma (GLI) dalam lingkungan tak berair.....	55
12. Interaksi Cyclopamine dengan Protein Glioma (GLI) dalam lingkungan berair	66
13. Interaksi Camptotechnin dengan Protein Glioma (GLI) dalam lingkungan berair	66
14. Interaksi Staurosporinone dengan Protein Glioma (GLI) dalam lingkungan berair.....	67

15. Interaksi Evodiamine dengan Protein Glioma (GLI) dalam lingkungan berair.....	67
16. Interaksi Homoharringtonine dengan Protein Glioma (GLI) dalam lingkungan berair.....	68
17. Interaksi Pancracristine dengan Protein Glioma (GLI) dalam lingkungan berair.....	68
18. Interaksi Sanguinarine dengan Protein Glioma (GLI) dalam lingkungan berair.....	69
19. Interaksi Vinblastine dengan Protein Glioma (GLI) dalam lingkungan berair.....	69

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema kerja.....	38
2. Proses <i>docking</i> dengan PLANTS®	39
3. Daftar Senyawa Bahan Alam Golongan Alkaloid	40
4. Tabel Hasil Pengamatan	46
5. Interaksi Senyawa Uji Terhadap GLI dalam Lingkungan Tidak Berair	51
6. Interaksi Senyawa Uji Terhadap GLI dalam Lingkungan Berair.....	66

DAFTAR ISTILAH DAN SINGKATAN

Istilah	Arti
<i>Binding site</i>	Daerah pada protein/reseptor yang menjadi target penambatan
<i>Docking</i>	Metode yang digunakan untuk memprediksi penambatan antara ligan dan reseptor
<i>In silico</i>	Menggunakan aplikasi komputer sebagai analog <i>In vitro</i> dan <i>In vivo</i>
<i>Reseptor</i>	Penerima molekul, sebagian besar merupakan protein atau biopolimer lain
<i>Pose</i>	Kandidat bentuk pengikatan
Ligan	Molekul partner komplementer yang akan berikatan dengan reseptor
MarvinBeans	Software <i>modelling</i> yang dibuat oleh ChemAxon®
<i>Scoring</i>	Proses evaluasi <i>pose</i> dengan menghitung interaksi molekular, seperti ikatan hidrogen dan kontak hidrofobik
Sekuens	Deretan asam amino dalam suatu protein.

Singkatan	Arti
MMV	<i>Molegro Molecular Viewer</i> , program yang digunakan dalam melihat interaksi hasil data <i>docking</i>
PDB	<i>Protein Data Bank</i> , data protein yang akan di <i>docking</i> dengan senyawa/ligan
PLANTS	<i>Protein-Ligand ANT System</i> , program <i>docking</i> dengan menggunakan algoritma ACO (<i>Ant Colony Optimization</i>)
RMSD	<i>Root Mean Square Deviation</i> , nilai yang menunjukkan validitas metode <i>docking</i> yang digunakan dengan nilai standar <2
Ala	Alanin, asam amino penyusun protein dalam tubuh
Arg	Arginin, asam amino penyusun protein dalam tubuh
Asn	Asparagin, asam amino penyusun protein dalam tubuh
Asp	Asam aspartat, asam amino penyusun protein dalam tubuh
Cys	Sistein, asam amino penyusun protein dalam tubuh
Gln	Glutamin, asam amino penyusun protein dalam tubuh
Glu	Asam glutamat, asam amino penyusun protein dalam tubuh
Gly	Glisin, asam amino penyusun protein dalam tubuh
His	Histidin, asam amino penyusun protein dalam tubuh

Singkatan	Arti
Ile	Isoleusin, asam amino penyusun protein dalam tubuh
Leu	Lesin, asam amino penyusun protein dalam tubuh
Lys	Lisin, asam amino penyusun protein dalam tubuh
Met	Metionin, asam amino penyusun protein dalam tubuh
Phe	Fenilalanin, asam amino penyusun protein dalam tubuh
Pro	Prolin, asam amino penyusun protein dalam tubuh
Ser	Serin, asam amino penyusun protein dalam tubuh
Thr	Treonin, asam amino penyusun protein dalam tubuh
Trp	Triptofan, asam amino penyusun protein dalam tubuh
Tyr	Tirosin, asam amino penyusun protein dalam tubuh
Val	Valin, asam amino penyusun protein dalam tubuh.

BAB I

PENDAHULUAN

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Hampir seluruh senyawa alkaloid berasal dari tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Semua alkaloida mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan dalam sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik (1).

Alkaloid diisolasi menjadi obat pertama kali pada abad ke-19, sehingga pada saat tersebut telah banyak obat dari beberapa macam alkaloid. Pada paruh kedua abad ke-20, alkaloid sangat dikenal sebagai tanaman obat dengan aktivitas antikankernya (2). Oleh karena itu, saat ini banyak penelitian yang telah dilakukan untuk mengetahui jenis-jenis alkaloid yang mempunyai aktivitas antikanker.

Kanker adalah suatu penyakit sel dengan ciri gangguan atau kegagalan mekanisme pengatur multiplikasi dan fungsi homeostatis lainnya pada organisme multiseluler. Sifat umum dari kanker adalah pertumbuhan sel yang berlebihan (umumnya berbentuk tumor), gangguan diferensiasi sel dan jaringan, serta bersifat invasif yaitu mampu tumbuh di jaringan sekitarnya (3). Salah satu penyebab terjadinya transkripsi dan pertumbuhan sel pada kanker adalah protein GLI. Pada jalur signal *Hedgehog* (Hh), ikatan antara ligan protein Hh dan reseptor PTCH1 menstimulasi *Smoothened* (Smo). Kemudian Smo tersebut mengaktifasi

GLI1 yang merupakan faktor transkripsi yang memicu perkembangan tumor (4,5).

Studi mengenai senyawa-senyawa antikanker dari bahan alam alkaloid terhadap protein GLI saat ini masih kurang. Dalam penemuan obat baru saat ini, metode komputasi adalah pengembangan obat modern yang lebih efisien dan waktu yang dibutuhkan lebih cepat. Kemampuan komputasi yang meningkat eksponensial merupakan peluang untuk mengembangkan simulasi dan kalkulasi dalam merancang obat. Komputer menawarkan metode yang dikenal sebagai *in silico* yang merupakan komplemen metode *in vitro* dan *in vivo* yang lazim digunakan dalam proses penemuan obat (6,7).

Docking saat ini merupakan metode pemodelan molekul yang paling banyak digunakan dan dikembangkan. Dan *docking* terbukti bermanfaat terutama dalam pemilihan senyawa penuntun untuk dikembangkan lebih lanjut. *Docking* mempunyai 3 tujuan utama yaitu memprediksi pengikatan sisi aktif dari suatu ligan, mengidentifikasi ligan baru menggunakan skrining virtual, dan memprediksi afinitas ikatan antara senyawa dan bagian aktif dari ligan yang telah diketahui.

Salah satu aplikasi *docking* adalah PLANTS[®] (*Protein-Ligan ANT System*) yang merupakan aplikasi gratis yang memiliki kualitas yang setara dengan aplikasi *docking* berbayar lainnya. Selain itu, kelebihan praktis PLANTS[®] adalah sederhana dan mudah. Namun PLANTS[®] tidak

menyediakan fungsi preparasi protein, ligan, maupun visualisasi sehingga dibutuhkan aplikasi tambahan (6,8).

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah studi interaksi antara beberapa senyawa dari bahan alam dari golongan alkaloid yang diketahui aktivitas antikankernya terhadap GLI dengan bantuan aplikasi komputer secara *in silico* pada tingkat molekuler, atau biasa disebut *Molecular Docking Simulation*. Dengan menggunakan informasi dari struktur target maupun sifat fisikokimia ligan, dapat dilakukan skrining uji interaksi senyawa-senyawa yang diketahui dapat menghambat GLI pada sisi aktifnya dengan menggunakan software PLANTS®.

Maksud penelitian ini adalah untuk mengetahui senyawa-senyawa bahan alam dari golongan alkaloid yang memiliki afinitas dan konformasi yang baik dalam menghambat protein GLI.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memberikan informasi dalam menemukan senyawa-senyawa golongan alkaloid yang dapat menghambat protein GLI yang dapat digunakan sebagai antikanker.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Kanker

Kanker adalah suatu penyakit sel dengan ciri gangguan atau kegagalan mekanisme pengatur multiplikasi dan fungsi homeostatis lainnya pada organisme multiseluler. Sifat umum dari kanker adalah pertumbuhan sel yang berlebihan (umumnya berbentuk tumor), gangguan diferensiasi sel dan jaringan, serta bersifat invasif yaitu mampu tumbuh di jaringan sekitarnya (3).

Pada sel normal, siklus sel dikontrol oleh kontribusi berbagai gen yang memberi respon terhadap tanda pepadatan sel, cedera jaringan, dan kebutuhan untuk tumbuh. Secara umum, sel menjalani siklusnya jika distimulasi oleh faktor hormon dan pertumbuhan yang dieksresi oleh sel-sel yang jauh, oleh faktor pertumbuhan yang diproduksi secara lokal, dan oleh isyarat kimia yang dilepaskan dari sel sekitarnya, termasuk sitokin yang dihasilkan oleh sel imun dan sel radang. Isyarat eksternal ini bertindak mengikat reseptor spesifik yang ada di membran plasma sel target. Setelah terikat, kompleks reseptor mengaktifkan sistem penghantar kedua (*second messenger system*), yang mengirimkan sinyal pertumbuhan ke inti sel. Ketika sinyal mencapai inti sel, protein tertentu yang ada di inti sel, yang disebut faktor transkripsi, mengaktifkan atau menginaktifkan gen khusus yang pada akhirnya menghasilkan protein yang mengontrol proliferasi sel (9).

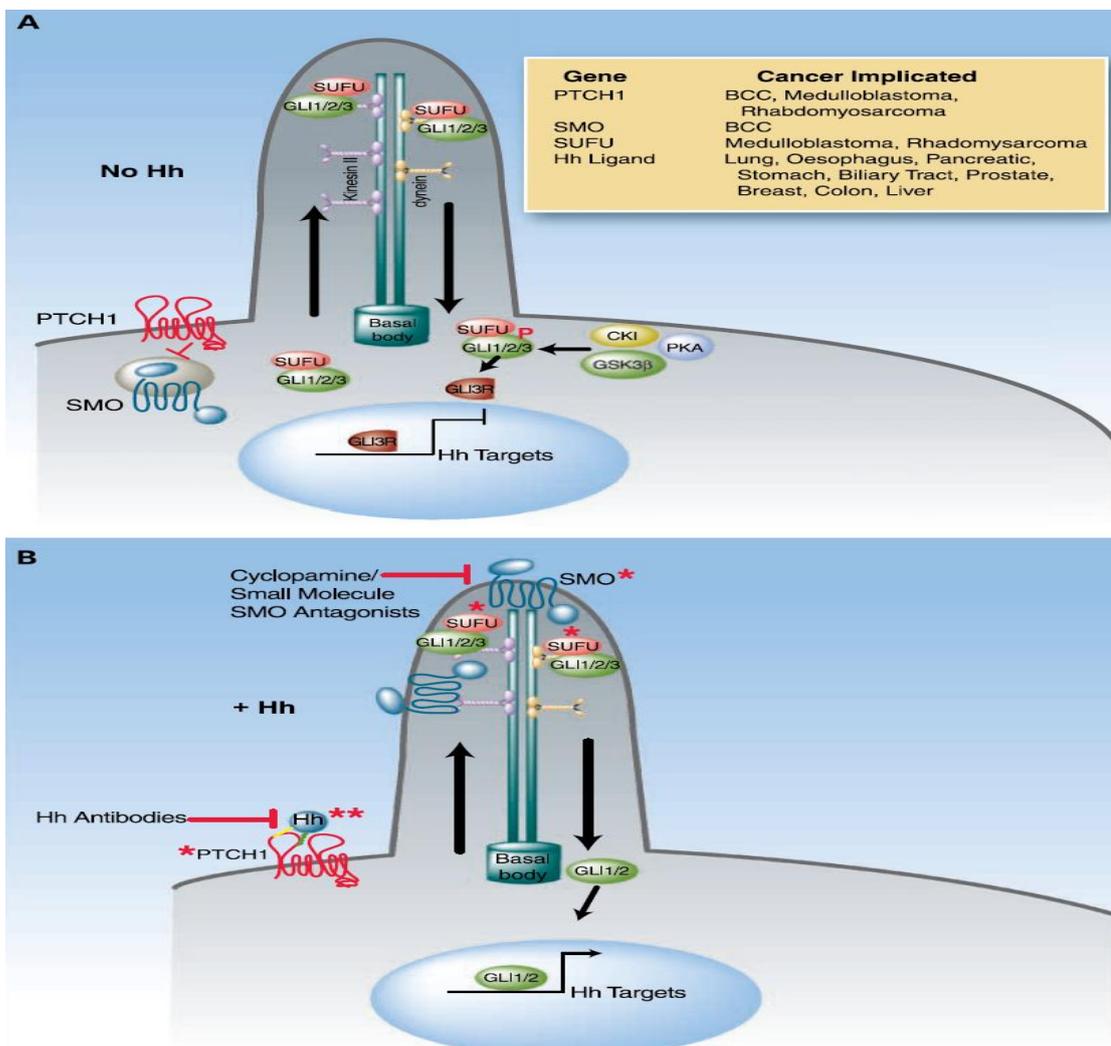
II.2 Jalur Signal Hedgehog

Hedgehog (Hh) adalah sebuah morfogen yang mempunyai bentuk pendek atau panjang pada berbagai jenis/tipe jaringan. Pada mamalia, terdapat 3 protein Hh yaitu Sonic Hh, Indian Hh, dan Desert Hh. Dalam sel yang memproduksi Hh, protein Hh yang telah dibuat masuk ke jalur sekresi dan mengalami autoproses dan modifikasi lemak, menghasilkan suatu penambahan gugus *palmitoyl* pada gugus NH₂-nya dan kolesterol pada gugus COOH. Selanjutnya pelepasan Hh bergantung pada *Dispatched* (Disp), suatu protein multitransmembran, sedangkan difusi Hh memerlukan sintesis *Tou-velu-dependent* dari heparin sulfat proteoglikan.

Dalam menerima signal Hh, jalur transmisi tersebut telah diatur pada berbagai tingkatan. Saat Hh tidak ada, *Patched* (Ptch1), reseptor 12-transmembran, bertindak sebagai katalitik yang menekan/menahan aktivitas *Smoothened* (Smo), sebuah protein 7-transmembran, dengan menjaga lokalisasinya pada permukaan sel. Aktivasi jalur Hh terjadi ketika ligan Hh mengikat Ptch1, dimana hal tersebut menghilangkan penghambatan pada Smo. Jumlah Hh untuk berikatan pada Ptch1 diatur oleh pengikatan Hh-protein seperti interaksi Hh-protein dan pertumbuhan gen spesifik yang dapat mengurangi Hh.

Pengaktifan Smo karena adanya Hh memicu pengaktifan protein glioma (Gli) yang merupakan faktor transkripsi *zink finger*. Pada hewan vertebrata, terdapat 3 jenis protein Gli yaitu Gli1 dan Gli2 yang berperan sebagai pengaktifan Hh pada gen target serta Gli3 bertindak sebagai

repressor. Pada jalur tanpa Hh, protein kinase seperti protein kinase A, *glycogen synthase kinase 3h*, dan kasein kinase 1a, *phosphorylate* Gli mendorong ke arah pemecahan Gli *proteosome-mediated* ke dalam gugus NH₂ yang bertindak sebagai represor ekspresi Hh gen target. *Supressor of fused* (Sufu) bertindak sebagai pengatur negatif lain pada jalur dengan mengikat Gli baik dalam sitoplasma dan di nuklues untuk mencegah pengaktifan Hh gen target. Skema jalur signal hedgehog pada sel kanker dapat terlihat pada gambar 1 (10).



II.3 Senyawa Bahan Alam Golongan Alkaloid

Alkaloid adalah suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan dalam sebagian besar atom nitrogen ini merupakan bagian dari cincin heterosiklik (1). Pada paruh kedua abad ke-20, alkaloid sangat dikenal sebagai tanaman obat dengan aktivitas antikankernya (2). Oleh karena itu, saat ini banyak penelitian yang telah dilakukan untuk mengetahui jenis-jenis alkaloid yang mempunyai aktivitas antikanker. Senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai antikanker antara lain :

1. Boldine, senyawa alkaloid golongan aporphine dari *Peumus boldus*. Menurut penelitian boldine mempunyai aktivitas antikanker dimana dapat menurunkan jumlah sel glioma malignan tertentu dengan dosis yang berbeda. Alkaloid ini juga tidak bersifat toksik pada sel non-tumor sehingga aman pada sel normal (11).
2. Evodiamine, obat herbal tradisional Cina yang digunakan sebagai antikanker dan kemoterapi tambahan untuk meningkatkan efek dan/atau mengurangi efek samping dari ameliorate. Alkaloid ini diisolasi dari *Evodia rutaecarpa*, secara *in vivo* dan *in vitro* dapat menghambat proliferasi, invasi, metastasis, dan menginduksi apoptosis pada sel tumor di berbagai seperti sel kanker payudara, kanker prostat, kanker leukemia limfosit-T, kanker melanoma, kanker tulang belakang, kanker kolon, dan kanker paru-paru (12).

3. Amphimidine, alkaloid pentasiklik pyridoacridine dari tanaman *Amphimedon* sp. dimana mempunyai derivat yaitu neoamphimidine dan deoxyamphimidine. Golongan senyawa ini mempunyai aktivitas antikanker pada penghambatan enzim topoisomerase, namun amphimidine memiliki penghambatan yang kurang kuat dibandingkan dengan neoamphimidine (13).
4. Vinblastine dan vincristine, alkaloid vinca yang diisolasi dari *Catharanthus roseus* G. Don. Yang merupakan senyawa alkaloid antikanker. Keduanya digunakan dalam bentuk kombinasi dengan obat kemoterapi kanker lainnya untuk penyembuhan berbagai jenis kanker seperti leukimia, limfoma, kanker payudara, dan paru-paru (14).
5. Homoharringtonine, diisolasi dari pohon Cina *Cephalotaxus harringtonia* var. *drupacea* dimana dapat menyembuhkan leukimia myelogeneous akut dan kronik yang dikombinasikan dengan harringtonine (14).
6. Tylophoridicine A, obat toksik tradisional Cina yang diisolasi dari *Tylophora ovate* dimana menurut penelitian mempunyai aktivitas antikanker yang sangat kuat. Zhen Yue-Ying, et al. mengamati aktivitas antitumor Tylophoridicine A dengan metode MMT dan mempunyai nilai ED_{50} pada sel tumor A549 6,36 $\mu\text{g/mL}$ sedangkan pada KB 0,029 $\mu\text{g/mL}$ (15).
7. Camptothecin, alkaloid monoterpen indol yang dihasilkan dari metobit tanaman *Camptotheca acuminata* Decaisne tetapi juga ditemukan

pada *Nothapodytes nimmoniana* dengan konsentrasi yang lebih tinggi. Alkaloid ini diketahui memiliki aktivitas antitumor dimana irinotecan dan topotecan adalah derivatnya yang menurut FDA digunakan dalam pengobatan kanker kolorektal dan ovarium (16).

8. Cephalotaxine, diisolasi dari *Cephalotaxus harringtonia* dimana mempunyai derivat senyawa yang mempunyai aktivitas antikaner terhadap sel leukimia (17)
9. Eupolauramine dan sampangine, jenis alkaloid azaphenanthrene diisolasi dari *Anaxagorea dolichocarpa*. Keduanya menunjukkan aktivitas antitumor pada sel leukimia K562 dengan IC₅₀ masing-masing 18,97 dan 10,95 µg/mL (18).
10. Narciclasine, pancratistatin, dan lycoricidine, termasuk dalam alkaloid isocarbostryl yang diisolasi masing-masing dari tanaman *Narcissus incomparabilis* Mill. Var. Helios dan *Hymenocallis littoralis*. Ketiga alkaloid tersebut secara in vitro berpotensi bersifat sitotoksik pada sel kanker manusia dengan menunjukkan efek antitumor pada *murine* sel leukimia P388 (19).
11. Sanguinarine, diperoleh dari *Sanguinaria Canadensis* yang telah diteliti memiliki efek antimikroba, antiinflamasi, dan antioksidan. Menurut Adhami, et al. bahwa sanguinarine memiliki sifat antiproliferatif dan proapoptotik kuat terhadap sel karsinoma prostat (20).
12. Lycorine, diisolasi dari tanaman *Lycoris* Amaryllidaceae yang dilaporkan bahwa pengobatan dengan alkaloid menghasilkan

penghambatan perkembangan sel dan induksi apoptosis pada sel leukemia manusia. Lycorine menginduksi apoptosis pada sel leukemia melalui jalur mitokondria intrinsik (21).

13. Ellipticine, Epipodophyllotoxin, Rohitukine, alkaloid-alkaloid yang masing-masing diisolasi dari *Bleckeria vitensis*, *Podophyllum emodii*, dan *Dysoxylum binectariferum* yang memiliki habitat di Prancis dan India dengan aktivitas antikanker (22).
14. Cyclopamine, alkaloid teratogenik steroidal dari tanaman *Veratum californicum* yang diketahui dapat memblokir jalur sinyal Shh pada tahun 1998 oleh Coope et al (23).
15. Berbamine, senyawa bahan alam yang sederhana berasal dari Berberis termasuk alkaloid golongan bis-benzylisoquinoline dan secara luas digunakan di Cina sebagai terapi penyembuhan leukopenia selama beberapa dekade. Berberine mempunyai mekanisme kerja sebagai antagonis calmodulin (CaM) yang berperan penting dalam proliferasi sel. Penelitian menunjukkan berbamine dapat menghambat pertumbuhan sel leukemia K562 sehingga efektif terhadap pasien chronic myeloid leukemia (CML) (24).
16. Chelidone, yang diisolasi dari *Chelidonium majus* memiliki sejarah panjang dalam fitomedisin untuk pengobatan banyak penyakit. Merupakan alkaloid golongan hexahydro-benzophenanthridine tersier dengan mekanisme menahan terjadinya mitosis dengan menghambat

polimerisasi tubulin dan mengaktivasi *stress of protein kinase/junk kinase pathway* (SAPK/JNK) (25).

17. Colchicine, metabolit sekunder yang diperoleh dari ekstrak tanaman *Colchicum luteum* dan *Colchicum autumnale* Linn. Colchicine menghambat polimerisasi mikrotubuli dengan mengikat tubulin yang merupakan salah satu unsur utama mikrotubulus. Tubulin terdapat secara alami pada mitosis dan oleh karena itu secara efektif berfungsi sebagai racun mitotik atau penghambat spindle (26).
18. Matrine, senyawa sederhana yang diisolasi dari tanaman *Sophora flavescens* Ait yang digunakan sebagai pengobatan kanker. Matrine diketahui dapat menghambat pertumbuhan sel kanker paru-paru dan hepatoma dan migrasi sel serta ekspresi protein terkait dalam sel-sel kanker (27)
19. Pellitorine, merupakan metabolit sekunder dari *Piper nigrum* dengan menunjukkan aktivitas yang kuat dalam melawan sel HL60 dan MCT-7 yang merupakan sel kanker (28).
20. Piperine, alkaloid yang diisolasi dari tanaman *Piper nigrum* yang diketahui menunjukkan aktivitas sitotoksik pada beberapa bentuk sel tumor. D.P. Bezerra, et al mengamati secara in vivo aktivitas antitumor piperine pada 60 ekor tikus yang telah diinduksikan Sarcoma 180. Berdasarkan analisis histopatologi dan morfologi tumor pada organ hati, limpa, dan ginjal menunjukkan bahwa piperine dapat mematikan pertumbuhan sel tumor (29).

21. Solanine, ditemukan banyak pada *Solanum tuberosum* L. yang secara *in vivo* maupun *in vitro* mempunyai efek sitotoksik pada sel, khususnya pada hepatokarsinomatik HePG₂ dengan menghambat apoptosisnya (30).
22. Tetrandrine, alkaloid golongan bisbenzouisoquinolin pada tanaman *Stephania tetrandra* yang diketahui mempunyai efek anti-inflamasi dan mekanisme kerja yang sangat mirip dengan salinomycin. Dimana obat tersebut bekerja pada kanker payudara atau *breast cancer initiation cells* (TICs). Menurut penelitian Wei Xu, et al. tetrandrine dapat menghambat proliferasi dengan IC₅₀ 15,2 ± 4,1 µM (untuk sel SUM-149) secara *in vitro* (31).
23. Straurosporinone, alkaloid bisindole yang paling aktif menghambat transkripsi dari Gli1 dan Gli2 dengan nilai IC₅₀ masing-masing 1,8 dan 2,7 µM (23).

II.4 Docking dan Skoring

Pemodelan molekul telah menjadi sesuatu yang sangat penting dan berharga bagi para ahli kimia medisinal dalam proses desain obat. Pemodelan molekul menggambarkan generasi, manipulasi atau penyajian struktur molekul 3 dimensi (3D) dan berhubungan dengan sifat fisiko-kimia. Hal tersebut melibatkan teknik komputerisasi yang berdasar pada metode teoritis kimia dan data eksperimental untuk memprediksi secara molekular dan biologi. Tergantung dalam konteks dan kekakuannya,

metode ini juga sering dikenal sebagai 'grafik molekular', 'visualisasi molekular', 'kimia komputasi', atau 'kimia kuantum komputasional'.

Sekarang ini, terdapat 2 strategi utama dalam pemodelan yang digunakan untuk konsep obat baru, yaitu :

1. Desain obat langsung : dalam pendekatan secara langsung, penyediaan dalam 3D dari reseptor yang diketahui ditentukan melalui *X-ray* kristalografi untuk mendesain molekul awal. Desain langsung ini, apabila geometri sisi reseptor diketahui, maka permasalahannya adalah menemukan suatu molekul dengan batasan geometri yang sama dan baik secara kimia. Setelah menemukan kandidat yang baik berdasarkan criteria tersebut, tahap *docking* dengan energi minimum dapat digunakan untuk memprediksi kekuatan ikatan.
2. Desain obat tidak langsung : pendekatan desain obat tidak langsung melibatkan analisis komparatif secara struktural dari molekul aktif dan inaktif yang diketahui yang dilengkapi dengan sisi reseptor secara hipotesis. Jika sisi geometrinya tidak diketahui maka perancang harus berdasar pada molekul ligan lain dengan sisi ikatan yang baik.

Docking molekul adalah penggunaan komputer dalam memasang suatu molekul kecil pada reseptor (bagian ini sering didefinisikan sebagai sisi aktif dari enzim/protein) melalui representasi yang dihasilkan komputer. Suatu molekul dengan kelengkapan yang baik mengindikasikan bahwa molekul tersebut potensial sebagai pengikat yang baik. Hasil dari *docking* secara normal termasuk berbagai prediksi afinitas

molekul, yang meliputi ranking dari senyawa yang di *docking* berdasarkan pada afinitasnya.

Interaksi obat dan reseptor adalah masalah kompleks. Banyak kekuatan yang terlibat dalam intermolekul yang tergabung diantaranya : hidrofobik, dispersi atau *Van der Waals*, ikatan hidrogen, dan elektrostatis. Kekuatan utama dalam pengikatan, nampak seperti interaksi hidrofobik, tetapi secara spesifik ikatan tersebut nampak seperti dikendalikan oleh ikatan hidrogen dan interaksi elektrostatis. Interaksi pemodelan intermolekul dalam suatu ligan-protein kompleks sangat sulit karena terdapat banyak derajat kebebasan dan pengetahuan yang tidak cukup dari efek pelarut dalam gabungan pengikatan (32,33).

Tingkat kesulitan komputasional *docking* meningkat sesuai pada metode berikut :

- a. *Rigid body docking*, dimana antara reseptor dan ligan bersifat kaku.
- b. *Flexible ligand docking*, dimana reseptor bersifat kaku dan ligan bersifat fleksibel atau dapat digerakkan ke segala arah.
- c. *Flexible docking*, dimana fleksibilitas reseptor dan ligan dapat dipertimbangkan.

Pada umumnya prosedur algoritma *docking* yang digunakan adalah model *flexible ligand docking* (34).

Skoring mengacu pada fakta dimana setiap prosedur *docking* harus dievaluasi dan kedudukan konfigurasi dibentuk oleh proses pencarian. Proses skoring berhubungan erat dengan eksperimen, pada *ab initio*

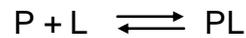
kalkulasi ikatan energi bebas tidak mudah untuk diakses ke dalam komputasi. Sehingga diperkirakan fungsi skoring harus menggunakan model ikatan energi bebas dengan akurasi yang cukup dan korelasi yang baik dengan eksperimen afinitas ikatan. Secara khusus, fungsi skoring harus dapat membedakan antara mode pengikatan *native* dan *non-native*.

Skoring terdiri dari 3 aspek relevan yang berbeda dalam *docking* dan desain, yaitu :

1. Kedudukan konfigurasi dihasilkan oleh pencarian *docking* untuk interaksi ligan dengan protein yang diberikan, aspek ini sangat penting dalam mendeteksi mode pengikatan terbaik dengan memperkirakan situasi secara eksperimen.
2. Kedudukan ligan berbeda terhadap afinitas ikatannya pada protein, hal tersebut memprioritaskan ligan pada afinitasnya, aspek ini sangat penting dalam skrining virtual.
3. Kedudukan satu atau ligan berbeda terhadap afinitas ikatan pada protein yang berbeda, aspek ini penting untuk mempertimbangkan selektifitas dan spesifitasnya.

Pengikatan selektif molekul kecil ligan pada protein spesifik ditentukan oleh faktor struktur dan energi. Untuk ligan yang diinginkan dalam farmasi, ikatan ligan-protein biasanya timbul melalui interaksi non kovalen. Secara termodinamika, kekuatan interaksi antara protein dan ligan digambarkan dengan afinitas pengikatan atau energi bebas

pengikatan (*Gibbs*). Diasumsikan dengan persamaan reaksi sederhana dalam bentuk:



Antara protein P dan ligan L yang menghasilkan kompleks PL, konstanta disosiasi K_d (atau konstanta pengikatan K_i) secara umum digunakan untuk menggambarkan stabilitas kompleks yang terbentuk :

$$K_d = [P][L] / [PL]$$

Dari percobaan pengukuran konstanta kesetimbangan maka afinitas pengikatan dapat dikalkulasi sebagai berikut :

$$\Delta G^0 = RT \ln K_d$$

dimana R adalah konstanta gas (8.314 J/molK) dan T adalah suhu. Berdasarkan persamaan *Gibbs-Helmholtz*, energi bebas pengikatan terdiri atas kontribusi entalpi dan entropi (32).

$$\Delta G = \Delta H - T \Delta S$$

Teknologi *docking* dan skoring diterapkan pada tahapan yang berbeda dari proses penemuan obat dengan tujuan :

1. Memprediksi mode ikatan ligan aktif yang telah diketahui
2. Mengidentifikasi ligan baru menggunakan skrining virtual
3. Memprediksi afinitas ikatan senyawa terkait dari senyawa aktif yang telah diketahui.

Dari ketiga tujuan tersebut, kesuksesan prediksi dari mode pengikatan ligan pada sisi aktif protein paling sederhana dan merupakan bidang yang sebagian besar sukses dicapai (8).

II.5 PLANTS[®]

Prediksi struktur kompleks suatu ligan terhadap protein dikenal sebagai *protein-ligan docking problem* (PLDP), yang merupakan bagian terpenting dalam proses desain obat. Istilah tersebut pertama kali diperkenalkan oleh Fischer dengan menggunakan perumpamaan pintu dan kunci (*lock-key*). Kunci (ligan) harus cocok pada pintu (protein) untuk membukanya (efek farmakologis). Karena molekul tidak bersifat kaku maka menjadi terbatas dan fleksibilitas ligan harus dipertimbangkan, tapi hal tersebut telah dilakukan oleh hampir semua algoritma *docking*. Pendekatan yang paling banyak adalah menjaga struktur protein tetap kaku. Dalam hal ini, dengan menemukan kemungkinan orientasi terbaik ligan pada protein dengan mengubah translasi dan rotasi ligan seperti halnya mengubah sudut torsi ikatan tunggal pada ligan. Karenanya, yang dilakukan adalah menemukan nilai optimal ligan dengan 3 translasional, 3 rotasional, dan r_l sebagai derajat kebebasan torsional yang menggambarkan rotasi ikatan tunggal. Sehingga, total nomor variabelnya adalah optimasi dimensi, dengan persamaan $n = 6 + r_l$.

Oleh karena itu, diperkenalkan salah satu metode algoritma *docking* PLANTS[®] (*Protein-Ligan ANT System*), yang berdasar pada optimasi koloni semut dengan suatu teknik perkumpulan/persatuan yang paling baik. PLANTS[®] adalah algoritma pencarian stokastik yang memperlakukan ligan dan protein yang fleksibel, yang berarti bahwa terdapat $6 + r_l$ derajat kebebasan untuk ligan dan r_p torsi derajat

kebebasan untuk protein seperti dijelaskan di atas. Bahkan jika tidak ada rantai samping yang fleksibel ditentukan, PLANTS[®] secara parsial mempertimbangkan fleksibilitas protein dengan memungkinkan untuk optimasi posisi atom hidrogen yang bisa terlibat dalam ikatan hidrogen, ini hasil di $r_p = r_{don}$ derajat torsional kebebasan, di mana r_{don} adalah kelompok donor hidrogen obligasi yang dapat berotasi (kelompok OH- dan NH₃⁺-) yang tersedia dalam *binding site* protein (35).

II.6 MarvinBeans-Chemaxon[®]

MarvinBeans-Chemaxon[®] (MarvinSketch, MarvinView dan MarvinSpace) adalah program yang menyediakan *platform* penggunaan perangkat lunak kimia dan *desktop* untuk industri farmasi dan bioteknologi. Dengan berfokus pada penggunaan interaksi aktif inti portabilitas. Chemaxon menciptakan solusi terkemuka tepi lintas *platform* untuk kimia modern dan interaksi kimia (36).

II.7 YASARA[®]

YASARA[®] (*Yet Another Scientific Artificial Reality Application*) adalah molekul grafis, program pemodelan, dan simulasi untuk windows, linux dan macOS, yang dikembangkan sejak tahun 1993. Dengan penggunaan antarmuka yang intuitif, grafik fotorealistik, dan dukungan kacamata *shutter* terjangkau. Menampilkan autostereoskopik dan perangkat input. YASARA menciptakan tingkatan baru dari interaksi dan “realitas buatan” yang memungkinkan fokus pada tujuan dan melupakan tentang rincian program (37).

II.8 MMV (*Molegro Molecular Viewer*)

Fungsi skoring PLANTS (*PLANTSscore*) digunakan untuk MMV yang sumbernya berasal dari PLANTS dengan fungsi awalnya ditemukan oleh Korb et.al.

Fungsi penilaian MolDock lebih meningkatkan fungsi-fungsi ini dengan menghasilkan ikatan hidrogen, panjang dan energi ikatan. Fungsi skoring *docking* $E_{plantscore}$ didefinisikan dengan persamaan energi berikut :

$$E_{plantscore} = f_{PLP} + f_{clash} + f_{tors} + C_{site} - 20$$

Dimana f_{PLP} mengambil potensial linier pada jumlah interaksi protein-ligan. Potensi PLP mirip dengan yang digunakan oleh skor moldock, akan tetapi jenis interaksi (repulsif, buried, non polar, ikatan hidrogen dan logam) yang diperhitungkan sedangkan skor moldock hanya memiliki dua-satu untuk ikatan sterik dan satu untuk interaksi ikatan hidrogen. Parameter interaksi PLP digunakan dalam MVD adalah $W_{plp-hb} = -2$, $W_{plp-met} = -4$, $W_{plp-bur} = -0.05$, $W_{plp-nonp} = -0.4$, $W_{plp-rep} = 0.5$, $W_{tors} = 1$.

Benturan ligan dan potensial torsional, f_{clash} dan f_{tors} mempertimbangkan benturan ligan internal dan kontribusi torsional dan obligasi fleksibel dalam ligan. Istilah C_{site} menetapkan hukum yang dinilai jika konformasi ligan terletak diluar *binding site* (didefinisikan dengan lingkup ruang pencarian). Untuk tiap berat atom yang terdapat di luar *binding site*, dengan nilai konstan 50 ditambahkan pada C_{site} . Pada energi *offset* -20 awalnya digunakan dalam pencarian algoritma PLANTS, dan

disertakan agar skor PLANTS sebanding dengan penerapan PLANTS asli (35,38).

Penerapan fungsi skoring PLANTS pada MVD berbeda dengan PLANTS asli diantaranya dua hal berikut (38) :

1. Penerapan PLANTS asli mengabaikan parameter standar untuk potensial torsional tripos ketika didapatkan jenis atom “dummy” atau “S.o2”. Ini berarti peranan jenis atom ini tidak dapat memberikan nilai potensial torsional. Biasanya, Penerapan MMV/MVD mengambil semua jenis atom dalam perhitungan.
2. Istilah C_{site} yang digunakan dalam PLANTS tidak cocok untuk pencarian algoritma *optimizer* atau moldock SE. Menurut standar, hukum ini digantikan oleh skema akhir dengan nilai 10000, untuk total energi jika berat atom ligan berada di luar *binding site* (didefinisikan dengan lingkup ruang pencarian). Pengaturan untuk penerapan PLANTS dapat digunakan dengan MMV saat mengevaluasi kembali ligan-pose dengan menggunakan “*Use original Plants setup*”, dalam kotak dialog inspeksi energi ligan.