E-ISSN : 2774-4655
FORTE JOURNAL
Universitas Haji Sumatera Utara
FJ | https://www.ojs.unhaj.ac.id/index.php/fj | Volume 06 | Nomor 01 | Januari| 2026 | Halaman 348-372

STUDI IN SILICO PENAMBATAN MOLEKUL SENYAWA AKTIF TUMBUHAN ANDALIMAN (Zanthoxylum acanthopodium DC.) TERHADAP ENZIM TYROSINE KINASE SEBAGAI ANTIKANKER

IN SILICO MOLECULAR DOCKING STUDY OF ACTIVE COMPOUNDS FROM ANDALIMAN (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) AGAINST TYROSINE KINASE ENZYME AS AN ANTICANCER AGENT

Athaillah[1]*, Rafita Yuniarti [2], Ainil Fithri Pulungan[3], Minda Sari Lubis[4]
[1,2,3,4] Universitas Muslim Nusantara Al Washliyah, Medan, Indonesia
Email: [1,]*atha8237@gmail.com, [2] rafitayuniarti@umnaw.ac.id
* corresponding author

Abstrak

Kanker merupakan salah satu penyebab kematian terbesar di dunia yang dipicu oleh pertumbuhan sel abnormal yang tidak terkendali. Salah satu target terapi kanker yang potensial adalah penghambatan enzim tirosin kinase yang berperan dalam transduksi sinyal pertumbuhan sel. Tumbuhan Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) merupakan tanaman asli Sumatera Utara yang mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder dengan potensi aktivitas biologis sebagai antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder Andaliman yang berpotensi sebagai antikanker, menganalisis interaksinya dengan enzim tirosin kinase, serta memprediksi profil farmakokinetik dan toksisitasnya secara in silico.

Penelitian ini menggunakan metode molecular docking terhadap protein target c-Src Tyrosine Kinase (PDB ID: 2SRC) menggunakan perangkat lunak PyRx (AutoDock Vina) dan visualisasi dengan PyMol serta Discovery Studio. Evaluasi sifat fisikokimia dilakukan berdasarkan Hukum Lipinski (*Rule of Five*), sementara profil farmakokinetik (ADME) dan toksisitas dianalisis menggunakan server web Swiss-ADME, Deep-PK, dan Protox.

Penelitian ini mengidentifikasi 12 senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.). Hasil penapisan menunjukkan 9 senyawa memiliki aktivitas antikanker potensial, dengan 7 di antaranya memenuhi syarat *Drug Likeness* berdasarkan aturan Lipinski. Simulasi *molecular docking* mengungkapkan bahwa senyawa Sesamin memiliki afinitas pengikatan terkuat (-10,4 kcal/mol), melampaui obat kontrol Imatinib (-9,8 kcal/mol). Analisis ADMET juga menunjukkan absorpsi gastrointestinal yang tinggi dan profil toksisitas yang relatif aman. Secara keseluruhan, senyawa Andaliman, khususnya Sesamin, berpotensi besar dikembangkan sebagai inhibitor enzim tirosin kinase untuk terapi antikanker.
Kata kunci: Andaliman, Antikanker, Molecular Docking, Tyrosine Kinase, In Silico

Abstract

Cancer is a leading cause of mortality worldwide, characterized by uncontrolled abnormal cell proliferation. A potential therapeutic target involves the inhibition of tyrosine kinase enzymes, which play a crucial role in cell growth signal transduction. Andaliman (Zanthoxylum acanthopodium DC.), a plant indigenous to North Sumatra, contains various secondary metabolites exhibiting potential anticancer biological activities. This study aims to identify secondary metabolites in Andaliman with anticancer potential, analyze their interactions with tyrosine kinase, and predict their pharmacokinetic and toxicity profiles via in silico methods.

Molecular docking simulations were conducted against the c-Src Tyrosine Kinase target protein (PDB ID: 2SRC) utilizing PyRx (AutoDock Vina) software, with visualization performed using PyMol and Discovery Studio. Physicochemical properties were evaluated based on Lipinski's Rule of Five, while pharmacokinetic (ADME) and toxicity profiles were analyzed using the Swiss-ADME, Deep-PK, and Protox web servers.

Submitted : 10/02/26	Reviewed : 16/02/26	Accepted : 03/07/26

This study identified 12 secondary metabolites derived from Andaliman (Zanthoxylum acanthopodium DC.) Screening results indicated that 9 compounds possessed potential anticancer activity, 7 of which satisfied the Drug Likeness criteria according to Lipinski's rules. Molecular docking simulations revealed that Sesamin exhibited the strongest binding affinity (-10.4 kcal/mol), surpassing the control drug, Imatinib (-9.8 kcal/mol). ADMET analysis further demonstrated high gastrointestinal absorption and a relatively safe toxicity profile. In conclusion, Andaliman-derived compounds, particularly Sesamin, hold significant potential for development as tyrosine kinase inhibitors for anticancer therapy.

Keywords: *Andaliman, Anticancer, Molecular Docking, Tyrosine Kinase, In Silico*

PENDAHULUAN

Kanker merupakan penyakit multifaset yang ditandai dengan pertumbuhan dan penyebaran sel abnormal yang tidak terkontrol, yang dapat menyerang jaringan di sekitarnya dan bermetastasis ke organ yang jauh (Alrumaihi, et al., 2025). Pertumbuhan kanker dipicu oleh faktor eksternal seperti gaya hidup dan penggunaan tembakau, serta faktor internal berupa mutasi genetik yang diturunkan (Nuraini, 2021). Sebagai salah satu masalah kesehatan global yang fatal, keganasan medis ini dikelompokkan ke dalam penyakit tidak menular katastropik lantaran sifatnya yang membahayakan jiwa, berbiaya tinggi, dan memerlukan manajemen terapi jangka panjang. Di skala nasional, data dari Global Cancer Observatory (Globocan) mencatat lonjakan beban penyakit di Indonesia pada tahun 2022 dengan temuan melebihi 408.661 kasus baru serta angka mortalitas yang mendekati 242.099 jiwa. Kasus kematian paling mendominasi ditemukan pada jenis kanker payudara, serviks, paru-paru, serta kolorektal. (Globocan, 2024).

Sifat zat sitotoksik yang tidak selektif memicu timbulnya berbagai efek samping yang merugikan. Kondisi ini mendorong masifnya pengembangan metode terapi bertarget yang menawarkan tingkat selektivitas jauh lebih tinggi daripada kemoterapi konvensional. Mekanisme kerja terapi bertarget berfokus pada penghambatan proliferasi dan ekspansi sel kanker melalui intervensi pada molekul spesifik atau kaskade jalur krusial yang meregulasi keganasan tersebut. Salah satu target potensial yang kini intensif diteliti adalah kaskade transduksi sinyal intraseluler yang dimediasi oleh aktivitas enzim tirosin kinase (Bagnyukova, et al., 2010). Bentuk aktif enzim ini juga menginduksi efek anti-apoptosis, menginduksi angiogenesis dan metastasis, serta resistensi terhadap terapi lain (Sutandyo, 2016). Reseptor Tirosin Kinase (RTK) merupakan reseptor yang bertanggung jawab atas berbagai respon seluler, terutama yang terkait dengan pertumbuhan dan perkembangan sel (Kusumawardhani, et al., 2022). Sedangkan inhibitor tirosin kinase (TKI) menurunkan fosforilasi tirosin kinase dan bersaing dengan ATP untuk situs pengikatan ATP TK, yang menghentikan pertumbuhan sel kanker (Alrumaihi, et al., 2025).

Salah satu subkelompok RTK adalah *Epidermal growth factor receptor (EGFR)* (Yewale *et* al, 2013). *EGFR* diaktifkan secara abnormal oleh berbagai mekanisme seperti ekspresi reseptor yang berlebihan, mutasi, dimerisasi reseptor yang bergantung pada ligan dan aktivasi yang tidak bergantung pada ligan dikaitkan dengan perkembangan berbagai tumor. Oleh karena itu, penghambatan *EGFR* spesifik adalah salah satu target utama untuk terapi kanker. Dua pendekatan utama telah dikembangkan dan menunjukkan manfaat dalam uji klinis untuk menargetkan *EGFR* yaitu antibodi monoklonal (mAb) dan penghambat tirosin kinase (TKI) (Yewale et al., 2013).

Salah satu modalitas terapi yang banyak dipelajari adalah terapi target, yaitu jenis pengobatan yang menggunakan obat-obatan atau zat lain untuk mengidentifikasi dan menyerang jenis sel kanker tertentu dengan kerusakan yang lebih sedikit pada sel normal. Terdapat dua kategori besar terapi target yaitu antibodi monoklonal (berat molekul +150.000 Dalton) dan molekul kecil (berat molekul +500 Dalton) untuk penghambat protein kinase. Obat sintesis sebagai penghambat tirosin kinase yaitu nama-nama yang berakhiran -nib yang dapat menembus membran sel dan berinteraksi dengan enzim protein target serta memodulasi aktivitas enzimatik seperti gefitinib, erlotinib, lapatinib dan imatinib (Sutandyo, 2016). Namun obat ini memiliki efek samping berbahaya bagi tubuh seperti kerontokan rambut, diare, dan muntah (Fauziah et al., 2023). Kendala utama dari penggunaan senyawa inhibitor tersebut terletak pada munculnya fenomena resistensi oleh sel tumor. Oleh sebab itu, urgensi untuk merancang dan mengembangkan agen

penghambat generasi baru dengan efikasi yang lebih superior menjadi sangat krusial guna mengeliminasi tantangan klinis tersebut (Huang & Fu, 2015). Terapi bertarget dengan selektivitas yang lebih baik dan tingkat toksisitas yang lebih rendah menjadi sangat penting (Bagnyukova et al., 2010).

Untuk menghadapi tantangan ini, saat ini banyak dikembangkan obat yang berasal dari tanaman herbal (Fauziah et al., 2023). Tanaman tersebut merupakan sumber penting obat-obatan inovatif karena mengandung berbagai senyawa vital seperti asam amino esensial, lipid, vitamin, mineral, karbohidrat, serat, flavonoid, dan senyawa fenolik lainnya (Alrumaihi et al., 2025). Adanya keragaman senyawa kimia dan aktivitas biologinya dapat menjadi sumber obat yang baik karena dinilai jauh lebih aman ditinjau dari tingkat toksisitasnya (Kartika et al., 2024). Obat herbal tersebut perlu dikarakterisasi lebih lanjut dan di optimasi dengan cara mengambil senyawa murni yang berperan sebagai senyawa aktif (Fauziah et al., 2023). Salah satu tanaman asli Indonesia yang berpotensi untuk dikembangkan adalah Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.)

Andaliman dikenal sebagai *Zanthoxylum acanthopodium* adalah tanaman asli Sumatera Utara yang banyak ditemukan di Tapanuli Utara, Toba Samosir, dan Dairi (Pratiwi et al., 2024). Andaliman adalah tumbuhan yang berasal dari genus *Zanthoxylum* dan mengandung banyak senyawa kimia seperti alkaloid, amida, flavonoid, lignan, sterol, terpen, dan lain-lain (Saragih & Arsita, 2019). Salah satu fungsinya adalah sebagai antioksidan yang mampu mengikat radikal bebas yang memicu kanker karena terjadi kerusakan sel (Pratiwi et al., 2024).

Dalam upaya mempercepat penemuan obat baru, metode *Rational Drug Design (RDD)* digunakan untuk mengidentifikasi senyawa aktif secara lebih efisien (Fauziah et al., 2023). Uji *in silico* memiliki peran penting dalam merancang dan mengoptimasi senyawa bioaktif sebelum dilakukan sintesis laboratorium karena dapatt memprediksi sifat fisikokimia, aktivitas biologis dan toksisitas senyawa (Kesuma et al., 2018). Salah satu metodenya adalah *molecular docking* yaitu proses mencocokkan molekul obat dengan reseptor target dalam ruang 3D (Fauziah et al., 2023). Studi komputasi ini menjadi pijakan dasar untuk memprediksi potensi farmakologi senyawa aktif terhadap reseptor spesifik, dalam hal ini enzim tirosin kinase (Syahputra et al., 2022).

Tujuan dari penelitian ini adalah mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder tumbuhan Andaliman yang berpotensi sebagai antikanker, menganalisis interaksi antara senyawa metabolit sekunder Andaliman dengan enzim tirosin kinase menggunakan metode molecular docking dan menganalisis profil farmakokinetik dan toksisitas dari senyawa metabolit sekunder Andaliman berdasarkan hasil prediksi penambatan molekul.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian yang menggunakan pendekatan *Computer-Aided Drug Design (CADD)* berbasis *in silico* menggunakan teknik penambatan molekul (*molecular docking*) dengan tujuan untuk memperoleh ikatan interaksi yang optimal antara protein dan ligan sehingga dapat menghasilkan agen penghambat perkembangan sel kanker.

Tahapan penelitian meliputi pencarian senyawa metabolit sekunder dan rantai Canonical SMILES, prediksi aktivitas biologi sebagai antikanker, analisis sifat fisikokimia, pencarian struktur 3D senyawa metabolit sekunder dan kontrol obat, identifikasi dan preparasi protein target, metode penambatan molekul dan evaluasi profil farmakokinetik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pencarian Senyawa Metabolit Sekunder Tumbuhan Andaliman (Zanthoxylum acanthopodium DC.) dan aktivitas sebagai Antikanker

Penentuan senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) merupakan tahap pertama yang dilakukan. Hasil pencarian dilakukan dengan cara memasukkan nama

ilmiahnya yaitu ”*Zanthoxylum acanthopodium*” pada situs ”http://www.knapsackfamily.com” dan diperoleh 12 senyawa metabolit sekunder. Untuk setiap senyawa yang diperoleh diambil data rantai canonical SMILES yang diperlukan untuk mencari informasi aktivitas biologis terkait senyawa tersebut. Hasil pencarian ditunjukkan pada tabel 4.1, lampiran 1 dan 4.

Tahapan selanjutnya yang dilakukan adalah mencari nilai prediksi aktivitas biologi dari senyawa metabolit sekunder dengan hasil berupa nilai *Probability to be active* (Pa) dan nilai *Probability to inactive* (Pi) menggunakan server web bernama ”PASS-Way2Drug” dengan memasukkan rantai canonical SMILES seperti ditunjukkan pada Lampiran 2. Hasil pencarian data aktivitas biologi senyawa metabolit sekunder tumbuhan Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) sebagai antikanker ditunjukkan pada tabel 1.

Berdasarkan data yang diperoleh pada tabel 1 dapat dilihat bahwa senyawa metabolit sekunder yang yang memiliki nilai Pa>07 dinyatakan memenuhi syarat adalah sebanyak 9 yaitu (+)-Epieudesmin, (+)-Eudesmin, (+)-Lirioresinol B, (+)-Sesamin, Aesculetin dimethyl ether, beta-Amyrenone, Gossypetin 7,4'-dimethyl ether, Gossypetin 7,4'-dimethyl ether 8-glucoside dan Tambulin. Sedangkan 3 senyawa metabolit sekunder lainnya tidak memenuhi syarat yaitu Dictamine, Platydesmine dan Skimmianine. Walaupun secara keseluruhan senyawa metabolit sekunder memiliki nilai Pa yang lebih besar dibanding dengan nilai Pi berdasarkan nilai aktivitas biologi sebagai antikanker.

Pa dan Pi merupakan estimasi probabilitas bagi suatu senyawa untuk menjadi aktif (*active*) dan tidak aktif (*inactive*) secara berturut-turut (Pa dan Pi), untuk setiap jenis aktivitas dari spektrum aktivitas biologis. Nilai Pa dan Pi berkisar antara 0 hingga 1. Sehingga hanya jenis-jenis aktivitas yang memiliki nilai Pa > Pi yang berpotensi menunjukkan aktivitas-aktivitas biologis dan dapat dimasukkan ke dalam spektrum aktivitas biologis.

Jika Pa > 0.7 maka senyawa tersebut memiliki probabilitas sangat tinggi untuk menunjukkan aktivitas biologis dalam pengujian laboratorium dan juga kemungkinan senyawa tersebut merupakan analog dari agen farmasi yang sudah dikenal juga tinggi. Jika 0.5 < Pa < 0.7 maka senyawa tersebut berpotensi menunjukkan adanya aktivitas biologis dalam pengujian laboratorium, meskipun probabilitasnya lebih rendah dan tingkat kemiripan senyawa tersebut dengan agen farmasi yang sudah dikenal tidak terlalu tinggi. Jika Pa < 0.5 maka senyawa tersebut cenderung kecil kemungkinannya untuk menunjukkan aktivitas biologis dalam pengujian laboratorium. Namun, apabila aktivitas ini terkonfirmasi dalam pengujian laboratorium, senyawa tersebut berpotensi menjadi Entitas Kimia Baru (*New Chemical Entity*) (Chelliah, 2008).

Tabel 1. Data aktivitas biologi senyawa metabolit sekunder tumbuhan Andaliman (*Zanthoxylum acanthopodium* DC.) sebagai antikanker

No	Nama Senyawa Metabolit Sekunder	Golongan Metabolit	Rumus Molekul	Pa	Pi	Kesimpulan (pa>0,7)
1	(+)-Epieudesmin	Lignan [a)]	$C_{22}H_{26}O_6$	0,811	0,010	Memenuhi Syarat
2	(+)-Eudesmin	Lignan [a)]	$C_{22}H_{26}O_6$	0,811	0,010	Memenuhi Syarat
3	(+)-Lirioresinol B	Lignan [b)]	$C_{22}H_{26}O_8$	0,824	0,009	Memenuhi Syarat
4	(+)-Sesamin	Lignan [a)]	$C_{20}H_{18}O_6$	0,787	0,013	Memenuhi Syarat
5	Aesculetin dimethyl ether	Kumarin [c)]	$C_{11}H_{10}O_4$	0,737	0,020	Memenuhi Syarat
6	beta-Amyrenone	Triterpenoid [d)]	$C_{30}H_{48}O$	0,925	0,005	Memenuhi Syarat
7	Dictamine	Alkaloid [e)]	$C_{12}H_9NO_2$	0,395	0,106	Tidak Memenuhi Syarat
8	Gossypetin 7,4'-dimethyl	Flavonoid [f)]	$C_{17}H_{14}O_8$	0,801	0,012	Memenuhi Syarat

	ether					
9	Gossypetin 7,4'-dimethyl ether 8-glucoside	Flavonoid [f)]	$C_{23}H_{24}O_{13}$	0,836	0,008	Memenuhi Syarat
10	Platydesmine	Alkaloid [g)]	$C_{15}H_{17}NO_3$	0,414	0,099	Tidak Memenuhi Syarat
11	Skimmianine	Alkaloid [g)]	$C_{14}H_{13}NO_4$	0,663	0,032	Tidak Memenuhi Syarat
12	Tambulin	Flavonoid [f)]	$C_{18}H_{16}O_7$	0,794	0,013	Memenuhi Syarat

Sumber: [a)]Marcos et al. (1990); [b)]Lin et al. (1994); [c)]Yang et al. (2009); [d)]Ferreira et al. (2017); [e)]Samad et al. (2014); [f)]Harborne (1971); [g)]John & Lamberton (1991)

Hasil Analisis Sifat Fisikokimia

Senyawa metabolit sekunder yang memenuhi kriteria aktivitas biologi kemudian ditentukan parameter fisikokimianya yang meliputi nilai bobot molekul (BM), jumlah hidrogen donor (HBD), jumlah hidrogen reseptor (HBA), nilai koefisien partisi (log P), nilai refraksi molar (MR) berdasarkan *Lipinski's Rule Of Five* (RO5) yaitu nilai BM tidak lebih dari 500 Da (g/mol), jumlah HBD tidak lebih dari sama dengan 5, jumlah HBA tidak lebih dari sama dengan 10, nilai log P kurang dari sama dengan 5, serta nilai refraksi molar berada pada rentang 40-130. Nilai-nilai untuk variabel ini diperoleh menggunakan server web swiss-ADME dengan memasukkan rantai canonical SMILES. Hasil pengujian dapat dilihat pada tabel 2.

Berdasarkan data yang diperoleh pada tabel 2 dapat dilihat bahwa dari 9 senyawa metabolit sekunder yang diuji diperoleh 7 senyawa yang memenuhi syarat dan dianggap senyawa mirip obat atau *Drug Likeness* berdasarkan *Lipinski's Rule Of Five* atau RO5. Senyawa tersebut yaitu (+)-Epieudesmin, (+)-Eudesmin, (+)-Lirioresinol B, (+)-Sesamin, Aesculetin dimethyl ether, Gossypetin 7,4'-dimethyl ether, dan Tambulin ditambah dengan 1 senyawa kontrol yaitu Imatinib. Kepatuhan terhadap aturan Lipinski ini sangat penting karena menggambarkan kemampuan senyawa untuk mencapai target biologisnya di dalam tubuh.

Adapun 2 senyawa lainnya tidak memenuhi syarat adalah beta-Amyrenone karena memiliki 2 pelanggaran yaitu parameter log P di atas 5 dengan nilai 7,21 yang menunjukkan bahwa senyawa tersebut bersifat lipofilik sehingga dapat mengurangi kelarutan air serta mempengaruhi penyerapan oral dan parameter RM di atas 130 dengan nilai 133 yang menunjukkan volume molar yang besar dapat meningkatkan halangan sterik sehingga senyawa tersebut sulit berinteraksi dengan situs aktif pada protein. Senyawa metabolit sekunder Gossypetin 7,4'-dimethyl ether 8-glucoside juga termasuk ke dalam kategori tidak memenuhi syarat karena memiliki 3 pelanggaran yaitu parameter BM di atas 500 dengan nilai 508,43 yang menyebabkan kemampuan senyawa tersebut lebih sulit menembus membran; parameter HBD di atas 5 dengan nilai 7 dan parameter HBA di atas 10 dengan nilai 13 yang menunjukkan bahwa senyawa tersebut memerlukan energi yang lebih tinggi pada proses absorpsi.

Tabel 2. Hasil pengujian Sifat Fisikokimia berdasarkan Lipinski's *Rule Of Five*

No	Senyawa Metabolit Sekunder	BM (≤500 g/mol)	HBD (≤5)	HBA (≤10)	Log P (≤5)	RM (40-130)	Pelanggaran RO5	*Drug Likeness*
1	Imatinib (kontrol)	493,60	2	6	3,38	154,50	1	Ya
2	(+)-Epieudesmin	386,44	0	6	3,05	103,84	0	Ya
3	(+)-Eudesmin	386,44	0	6	3,06	103,84	0	Ya

4	(+)-Lirioresinol B	418,44	2	8	2,33	107,89	0	Ya
5	(+)-Sesamin	354,35	0	6	2,79	90,00	0	Ya
6	Aesculetin dimethyl ether	206,19	0	4	1,84	55,47	0	Ya
7	beta-Amyrenone	424,70	0	1	7,21	133,92	2	Tidak
8	Gossypetin 7,4'-dimethyl ether	346,29	4	8	1,79	89,00	0	Ya
9	Gossypetin 7,4'-dimethyl ether 8-glucoside	508,43	7	13	0,02	121,12	3	Tidak
10	Tambulin	344,32	2	7	2,49	91,44	0	Ya

Keterangan : BM = Berat Molekul; HBD = Donor Ikatan Hidrogen; HBA = Aseptor Ikatan Hidrogen; RM = Refraksi Molar; [ ] = Pelanggaran RO5

Berbeda halnya dengan senyawa imatinib yang digunakan sebagai kontrol dinyatakan memenuhi syarat walaupun terdapat 1 parameter yang tidak memenuhi syarat yaitu parameter RM di atas 130 yaitu 154,50. Hal ini mengacu kepada ketentuan RO5 yang menyatakan bahwa RO5 hanya boleh memiliki 1 pelanggaran dari 5 parameter yang diuji. Hal ini selaras dengan (Benet et al., 2016) menjelaskan bahwa obat aktif oral tidak boleh memiliki lebih dari satu pelanggaran terhadap parameter RO5.

Berdasarkan hasil pengujian ini, senyawa metabolit sekunder yang memenuhi syarat dan dinyatakan sebagai senyawa mirip obat atau *Drug Likeness* sebagai antikanker akan dilanjutkan untuk pengujian penambatan molekul dengan protein Tyrosine-Protein Kinase sebagai kandidat obat antikanker.

Rahmawati et.al. (2024) mengemukakan bahwa bobot molekul secara signifikan memengaruhi laju difusi pasif suatu senyawa dalam melewati membran sel. Apabila bobot molekul tersebut melampaui ambang batas 500 g/mol, maka permeabilitas senyawa untuk menembus membran akan kian terhambat. Parameter donor dan akseptor ikatan hidrogen berfungsi sebagai indikator kapasitas pengikatan hidrogen yang dibutuhkan selama fase absorpsi. Kebutuhan energi untuk proses absorpsi akan melonjak drastis jika jumlah donor ikatan hidrogen lebih dari 10 dan akseptor hidrogen melebihi 5. Sementara itu, parameter koefisien partisi (log P) merepresentasikan tingkat kelarutan senyawa dalam medium non-polar, seperti lipid dan minyak. Nilai log P yang terlampau tinggi menandakan sifat hidrofobik yang kuat; kondisi ini menyebabkan molekul tertahan lebih lama di dalam lapisan ganda lipid serta terdistribusi secara luas ke seluruh tubuh, yang pada akhirnya mereduksi selektivitas target dan memicu efek toksik. Sebaliknya, senyawa dengan nilai log P yang sangat negatif juga akan mengalami kendala dalam mengintrusi lapisan lipid. Terakhir, dimensi molar dari struktur kimia dievaluasi melalui nilai *Calculated Molar Refraction* (CMR) sebagai representasi dari Molar Refraksi (MR). Parameter MR ini mencerminkan karakteristik sterik molekul yang memegang peranan penting dalam memediasi interaksi antara ligan dengan reseptor target.

Lebih lanjut Nuraini (2021) memaparkan bahwa parameter log P (logaritma koefisien partisi) merepresentasikan tingkat lipofilisitas atau hidrofobisitas dari suatu molekul, yang mencerminkan afinitas kelarutannya dalam medium non-polar seperti minyak dan lemak. Peningkatan nilai log P mengindikasikan sifat hidrofobik yang lebih kuat, sehingga senyawa cenderung tertahan lebih lama di dalam lapisan ganda lipid (lipid bilayer) dan terdistribusi secara luas ke seluruh jaringan tubuh. Sebaliknya, nilai log P diharapkan tidak bernilai negatif agar molekul tetap optimal saat melintasi membran lipid sekaligus meminimalkan interaksi yang tidak diinginkan dengan fase air. Di samping itu, kuantitas donor dan akseptor ikatan hidrogen berkorelasi langsung dengan efektivitas biologis suatu senyawa. Keberadaan ikatan hidrogen ini memengaruhi karakteristik fisikokimia bahan obat termasuk titik didih, titik lebur, kelarutan air, kapasitas pembentukan kelat, serta derajat keasaman—yang secara simultan menentukan respons biologisnya. Sementara itu, nilai refraksi molar (*molar refractivity*) mencerminkan total

polarisabilitas suatu molekul obat; dalam hal ini, bagian non-polar berperan dalam memicu momentum ikatan dengan reseptor, sedangkan fraksi polar berfungsi memfasilitasi proses ekskresi sisa metabolisme senyawa dari dalam tubuh.

Lipinski (2004) menjelaskan bahwa *rule of five* (RO5) pada dasarnya membahas senyawa aktif oral dan mendefinisikan empat rentang parameter fisikokimia sederhana (MWT $\leq$ 500, log P $\leq$ 5, donor ikatan H $\leq$ 5, akseptor ikatan H $\leq$ 10) yang berhubungan dengan 90% obat aktif oral yang telah mencapai status klinis fase II. Parameter fisikokimia ini berhubungan dengan kelarutan dalam air dan permeabilitas usus yang dapat diterima dan merupakan langkah pertama dalam bioavailabilitas oral. Variabel RO5 sengaja dibuat sebagai prediktor konservatif karena kimia medisinal dan kombinatorial menghasilkan terlalu banyak senyawa dengan sifat fisikokimia yang sangat buruk pada masa tersebut.

Hasil Pencarian Struktur 3D Senyawa Metabolit Sekunder dan Kontrol Obat

Struktur 3 dimensi (3D) senyawa metabolit sekunder dan senyawa kontrol diperoleh dari server web bernama "PubChem" dengan cara memasukkan nama senyawa metabolit sekunder atau dengan cara memasukkan rantai canonical SMILES. Hasil pencarian diperoleh struktur 3 dimensinya yang disimpan dalam format SDF. File ini selanjutnya digunakan dalam uji penambatan molekul.

Hasil Identifikasi dan Preparasi Protein Target

Pencarian struktur protein target tyrosine-protein kinase menggunakan server web protein data bank (PDB) dengan situs http://www.rcsb.org. Berdasarkan hasil pencarian tersebut diperolah jenis struktur dengan nama "*Crystal Structure of Human Tyrosine-Protein Kinase c-Src, in Complex with AMP-PNP*". Hasil pencarian ditunjukkan pada tabel 3.

Tabel 3. Informasi makromolekul dan ligan kristalografi

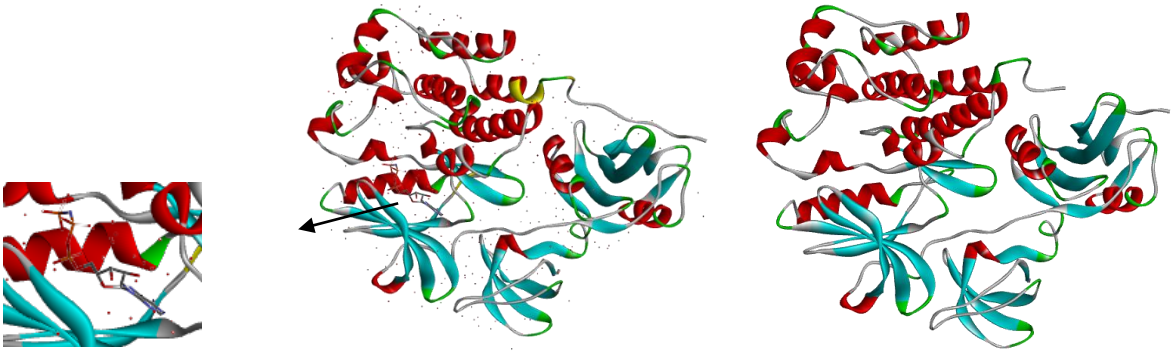
Klasifikasi	Tyrosine-Protein Kinase
PDB ID	2SRC
Organisme	Homo sapiens
Metode	X-RAY DIFFRACTION
Resolusi	1.50 Å
Ligan	phosphoaminophosphonic acid-adenylate ester
Kode tiga huruf ligan	ANP

Berdasarkan tabel 3 protein tersebut memiliki kode PDB "2SRC" merupakan kode yang mewakili struktur dari enzim c-Src Tyrosine Kinase dan target organismenya adalah "Homo Sapiens" yang menunjukkan bahwa protein tersebut berasal dari manusia. Metode yang digunakan adalah X-Ray Diffraction dengan resolusi 1,50 Å menunjukkan resolusi yang tinggi yang dapat melihat ikatan yang terjadi pada sisi aktif protein. Ligan alami yang terikat pada protein ini adalah ANP. Ligan ini disbut juga ligan natif dalam proses docking karena berfungsi sebagai validasi metode. Protein ini diunduh struktur 3 dimensinya yang disimpan dalam format .PDB untuk dilakukan proses preparasi protein.

Struktur protein telah diunduh dari situs masih dalam bentuk terikat dengan ligan dan molekul air. Adanya molekul ini dapat mengganggu proses docking molekul. Oleh karena itu perlu dilakukan preparasi protein terlebih dahulu sebelum dilakukan proses penambatan molekul.

Preparasi protein target dilakukan dengan aplikasi *Bioavia Discovery Studio* karena aplikasi tersebut memiliki fitur untuk melihat ligan alami, asam amino, air dan sisi aktif protein. Sehingga proses preparasi protein dapat dilakukan dengan cara menghilangkan air dan ligan alami sehingga proses docking dapat dilakukan dengan baik. Hasil preparasi sebelum dan setelah dapat dilihat pada gambar 4.1.

Berdasarkan gambar 1 (a) protein sebelum preparasi dapat dilihat adanya titik-titik merah yang berada di dalam dan sekitar protein yang menunjukkan adanya molekul air (H_2O), selain itu pada bagian sisi aktif protein juga terdapat ligan alami ANP yang merupakan tempat ligan-ligan dapat berikatan pada saat proses *docking*. Berbeda dengan gambar 1 (b) protein setelah preparasi strukturnya lebih bersih yang menunjukkan tidak ada lagi molekul air dan ligan alami.



Ligan natif (a) Sebelum preparasi (b) Setelah preparasi

Gambar 1. Hasil Preparasi protein target tyrosine-protein kinase

Rohaniah et al. (2022) menyatakan bahwa preparasi reseptor uji melibatkan pemisahan makromolekul dari entitas lain yang terikat, seperti air dan ligan natif, yang kemudian diikuti dengan penambahan atom hidrogen. Penghilangan molekul air dan ligan bawaan ini dilakukan guna mengeliminasi gangguan atau obstruksi selama simulasi penambatan berlangsung. Sementara itu, introduksi atom hidrogen ke dalam struktur protein bertujuan untuk merekonstruksi lingkungan elektrostatik yang menyerupai kondisi fisiologis atau pH tubuh manusia.

Hasil Simulasi Penambatan Molekul (Molecular Docking) dan Visualisasi Interaksi Protein dengan Ligan

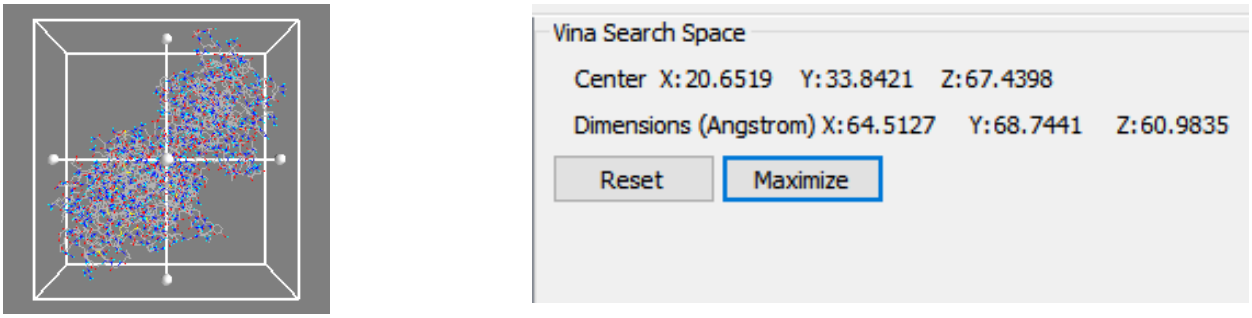
a. Hasil Validasi Metode Penambatan Molekul

Validasi metode penambatan molekul dilakukan dengan cara melakukan redocing antara protein dengan ligan natif berdasarkan nilai RMSD < 2 Å. Hasil pengujian ditunjukkan pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil redocking antara protein dengan ligan natif

Ligan Natif	Jumlah Mode/ Pose	*RSMD* (<2Å)	*Binding Affinity* (Kcal/mol)
ANP	1	0,0	-8,4
	2	1,341	-7,8

Validasi metode penambatan molekul juga memberikan informasi terkait parameter grid box yang dijadikan acuan untuk pengujian menggunakan ligan-ligan yang lain. Nilai grid box yang diperoleh pada saat pengaturan penambatan molekul ditunjukkan pada gambar 2.

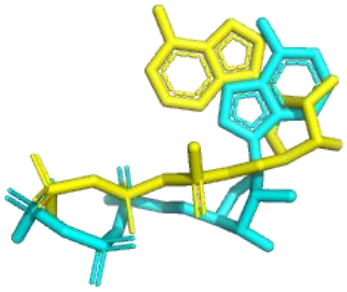


Gambar 2. Hasil pengaturan gridbox

Berdasarkan proses validasi *grid box* diatur pada kondisi maximal dan diperoleh posisi pusat yaitu x = 20,6519, y = 33,8421, dan z = 67,4398 dengan dimensi yaitu x = 64,5127; y = 68,7441 dan z = 60,9835. Prosedur *docking* yang telah dilakukan dinyatakan valid karena hasil *docking* terhadap ligan natif diperoleh RMSD kurang dari 2 Å yaitu sebesar 1,341 Å berdasarkan tabel 4.4. Semakin kecil nilai RMSD yang didapat dari hasil penambatan ulang maka akan menyerupai posisi ligan natif aslinya. Oleh karena itu metode ini dapat dilakukan proses *docking* molekul terhadap ligan lainnya dengan pengaturan yang sama berdasarkan proses validasi. Susanti et al., (2018) menjelaskan semakin kecil nilai RMSD yang diperoleh menunjukkan bahwa pose *ligand* yang diprediksi semakin baik karena semakin mendekati konformasi *native ligand*.

Validasi metode dilakukan melalui prosedur redocking untuk memastikan replisitas metode yang digunakan. Menurut Naufa et al. (2022), parameter penentu validasi ini adalah nilai Root Mean Square Deviation (RMSD) dengan batas ambang < 2 Å. Lebih lanjut, Hanifitri et al. (2023) menjelaskan bahwa rendahnya nilai RMSD mengindikasikan tingginya akurasi koordinat antara ligan hasil simulasi dengan struktur kristalografi aslinya (native ligand).

Berdasarkan visualisasi menggunakan PyMOL, ligan hasil redocking (kuning) menunjukkan posisi yang tumpang tindih (overlapping) secara presisi dengan ligan natif (biru) pada sisi aktif protein yang sama (Gambar 3). Hal ini mengonfirmasi secara visual bahwa simulasi penambatan molekul yang dilakukan telah berjalan dengan akurat dan valid seperti ditunjukkan pada gambar 3.



Gambar 3. Visualisasi tumpang tindih antara ligan natif (biru) dan ligan natif *redocking* (kuning)

b. Hasil Simulasi Penambatan Molekul *(Molecular Docking)*

Simulasi penambatan molekul (*molecular docking*) antara protein-ligan menggunakan aplikasi PyRx. Hasil penambatan menghasilkan 9 pose antara ligan-protein yang selanjutnya dipilih berdasarkan nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*) < 2 Å dan nilai *Binding Affinity* pada RMSD terkecil yaitu 0,00 Å. Hasil pengujian ditunjukkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil nilai Binding Affinity pada RMSD = 0,0 Å dari proses penambatan molekul antara protein dengan ligan

No	Kode RID	Ligan	*BA* (Kcal/mol)	Jumlah Pose (*RSMD* <2Å)
1	-	**Ligan Natif (ANP)**	-8,4	2
2	5291	Imatinib (kontrol)	-9,8	2
3	7000209	Epieudesmin	-7,9	1
4	73117	Eudesmin	-9,0	4
5	443023	Lirioresinol B	-8,1	6
6	72307	Sesamin	-10,4	5
7	8417	Aesculetin dimethyl ether	-6,7	2
8	44260026	Gossypetin 7,4'-dimethyl ether	-9,1	1
9	5281700	Tambulin	-9,0	2

Keterangan : *RSMD = Root Mean Square Deveation; BA = Binding Affinity; RID = Run Identifier*

Berdasarkan tabel 5 dapat dilihat bahwa proses penambatan molekul menghasilkan nilai kekuatan interaksi *Binding Affinity* (*BA*) antara ligan dan protein target berdasarkan hasil pose 1 dengan nilai RMSD adalah 0. Interaksi ligan-reseptor yang mendekati keadaan natifnya adalah yang memiliki nilai *BA* paling negatif. Hasil docking menunjukkan bahwa Imatinib (kontrol) menghasilkan nilai BA lebih negatif yaitu -9,8 kcal/mol dibandingkan dengan ligan natif yaitu -8,4 kcal/mol. Ligan uji yaitu Sesamin memiliki nilai *BA* paling negatif yaitu –10,4 kcal/mol, lebih baik dibandingkan dengan ligan natif dan kontrol. Gossypetin 7,4'-dimethyl ether memiliki nili BA lebih baik dari ligan natif yaitu –9,1 kcal/mol, begitu juga dengan senyawa Eudesmin dan Tambulin yaitu –9,0 kcal/mol. Sedangkan nilai BA yang paling kecil pada senyawa Aesculetin dimethyl ether yaitu -6,7 kcal/mol yang berada di bawah ligan natif dan kontrol.

Koban et al. (2022) menjelaskan bahwa afinitas pengikatan yang lebih tinggi menandakan bahwa senyawa tersebut membutuhkan energi yang lebih sedikit untuk mengikat protein targetnya. Oleh karena itu, Nilai BA yang lebih negatif menunjukkan afinitas tinggi dan tidak membutuhkan energi yang besar untuk mengikat reseptor, sehingga interaksi yang terbentuk lebih stabil antara ligan dan protein target. Interaksi yang kuat menandakan bahwa senyawa tersebut mampu berikatan erat dengan residu aktif pada protein target, sehingga berpotensi menghambat aktivitas enzim secara efektif.

Selain menghasilkan nilai *BA*, hasil penambatan molekul juga menghasilkan 9 pose. Jumlah pose yang diambil adalah poses yang sesuai dengan ketentuan berdasarkan nilai *RSMD* <2Å. Berdasarkan tabel 4 dapat dilihat bahwa ligan Epieudesmin dan Gossypetin 7,4'-dimethyl ether menghasilkan 1 mode, Aesculetin dimethyl ether, Tambulin serta Imatinib (kontrol) menghasilkan 2 pose, Eudesmin menghasilkan 4 pose, Sesamin menghasilkan 5 pose, Lirioresinol B menghasilkan 6 pose. Pose menunjukkan bahwa ligan tersebut dapat berkonformasi dengan protein dengan banyak bentuk dan lebih mudah berikatan dengan situs aktif pada protein dengan nilai *RMSD* < 2Å. Berdasarkan hasil simulasi tersebut Lirioresinol B dan Sesamin memiliki struktur yang baik dalam bekonformasi pada sisi aktif protein.

Hakiki et al. 2024) validasi metode docking memiliki parameter berupa nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*). Nilai RMSD menunjukkan perbandingan konformasi antara ligan alami (native ligand) hasil docking dengan konformasi native ligan hasil pengukuran kristalografi, hasil validasi dikatakan valid dan baik jika nilai RMSD yang diperoleh ≤ 2 Å.

Saputri et al. (2016) menjelaskan bahwa luaran optimal dari simulasi molecular docking ditentukan melalui pemilihan konformasi ligan yang menghasilkan tingkat energi termodinamika paling minimum. Energi ikatan (binding affinity) tersebut merupakan tolok ukur kuantitatif yang merepresentasikan kekuatan interaksi antara molekul obat dan reseptor target. Korelasi parameter ini bersifat berbanding terbalik; penurunan nilai binding affinity menandakan afinitas pengikatan yang kian kuat dan stabil, sementara nilai energi yang semakin besar mencerminkan interaksi yang melemah.

Sejalan dengan hal tersebut, Naufa et al. (2022) menegaskan bahwa rendahnya nilai binding affinity menunjukkan kemudahan senyawa bioaktif dalam mengintrusi dan berikatan pada sisi aktif (binding site) protein target. Oleh karena itu, suatu senyawa metabolit sekunder diprediksi memiliki potensi terapeutik yang kuat apabila mampu menghasilkan nilai energi ikatan yang setara atau lebih negatif dibandingkan dengan senyawa kontrol atau ligan pembanding.

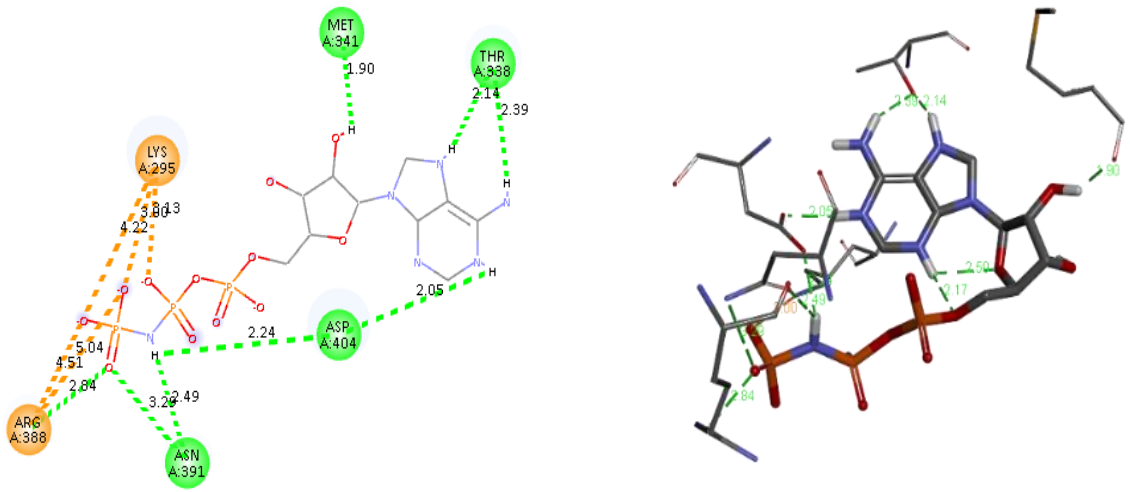
c. Hasil Visualisasi Ikatan antara Protein dengan Ligan

Visualisasi 2D dan 3D dilakukan untuk mengetahui jenis interaksi yang terjadi antara ligan dengan protein target pada bagian sisi aktifnya. Visualisasi ini diolah menggunakan aplikasi Biovia Discovery Studio setelah menggabungkan file ligan pose 1 dengan file protein target menggunakan aplikasi Pymol. Visualisasi ini diolah menggunakan aplikasi *Biovia Discovery Studio*. Hasilnya ditunjukkan pada lampiran 9 dan gambar 4.

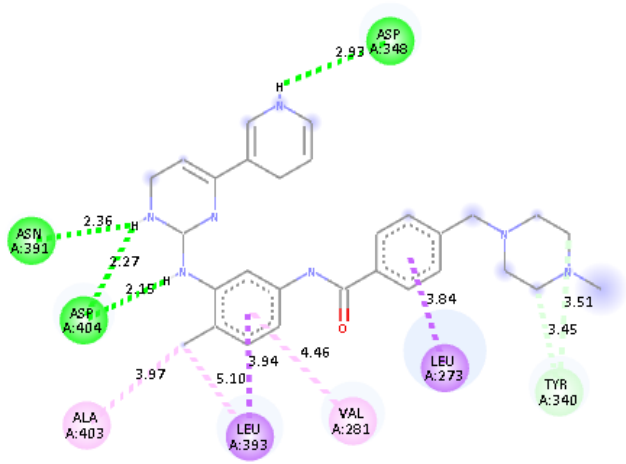
Berdasarkan gambar 4 dapat dilihat bahwa setiap ligan memiliki ikatan yang spesifik pada sisi aktif protein. Jenis ikatan tersebut dapat menunjukkan jenis interaksi yang terbentuk ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik dan interaksi elektrostatis. Jenis interaksi tersebut dapat dikelompokkan berdasarkan perbedaan warna yang dihasilkan dimana warna hijau (ikatan hidrogen konvensional) dan biru (ikatan hidrogen pi-donor) termasuk ke dalam ikatan hidrogen, warna oranye (pi-anion, jembatan garam, dan *attractive charge*) merupakan interaksi elektrostatik. Selanjutnya interaksi hidrofobik ditunjukkan oleh warna ungu (pi-sigma), ungu muda (alkil dan pi-alkil) dan biru (ikatan karbon hidrogen).

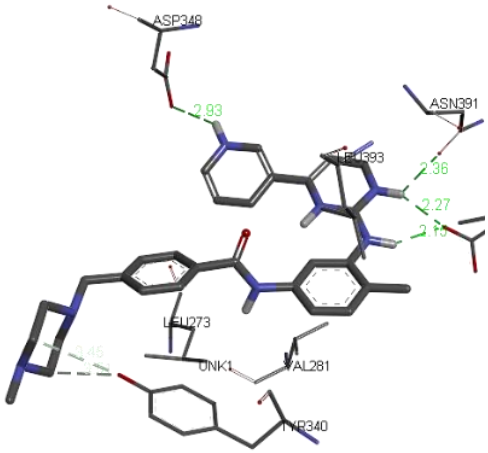
Kemiripan warna terdapat pada warna biru yang mewakili ikatan hidrogen pi-donor dan ikatan karbon hidrogen yang memiliki sifat yang beda, hal ini disebabkan karena ikatan hidrogen pi-donor melibatkan donor hidrogen polar yang bersifat hidrofilik dan bermuatan parsial positif sehingga interaksinya didominasi oleh gaya tarik-menarik muatan seperti pada elektron π di atas dan di bawah cincin aromatik yang kaya elektron seperti pada residu asam amino THR 338 (Sesamin dan Eudesmin). Oleh karena itu dikelompokkan sebagai varian dari ikatan hidrogen.

1. Ligan natif

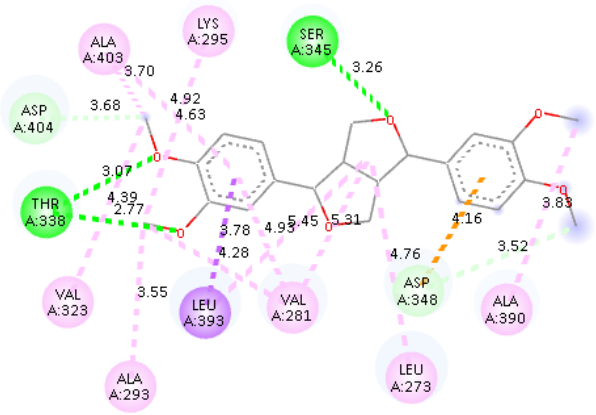


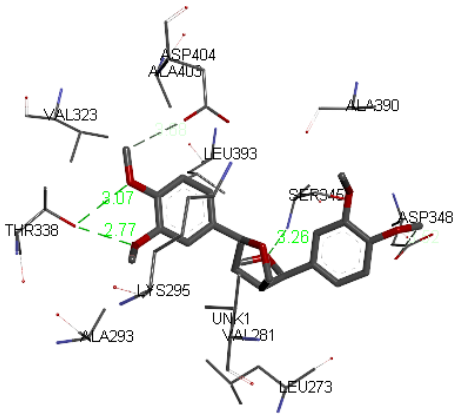
2. Imatinib (kontrol)



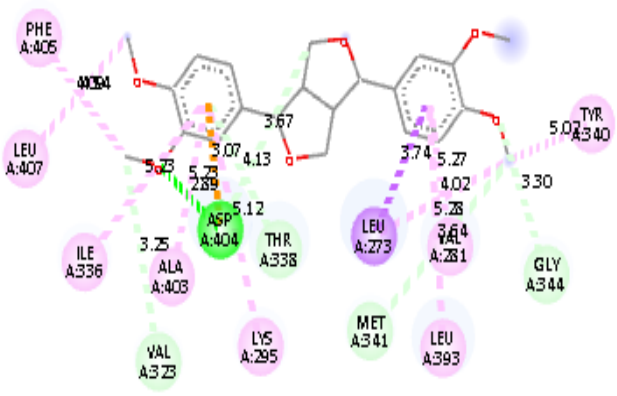


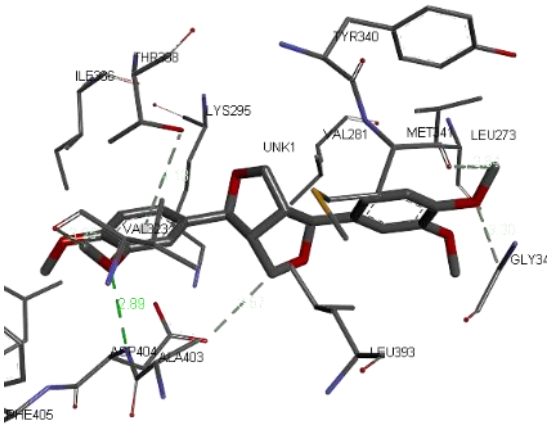
3. Epieudesmin



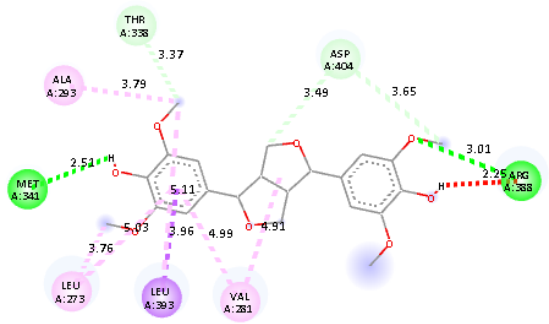


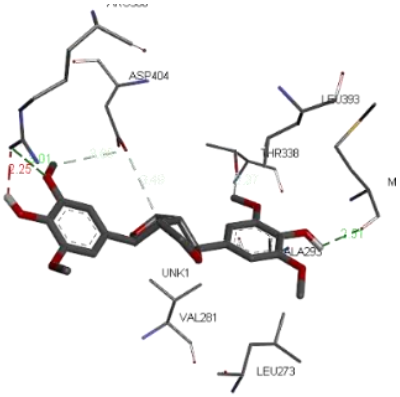
4. Eudesmin



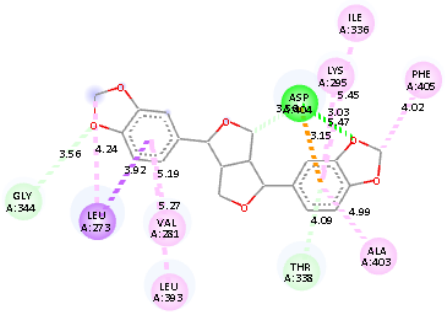


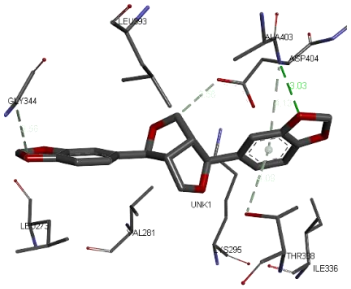
5. Lirioresinol B



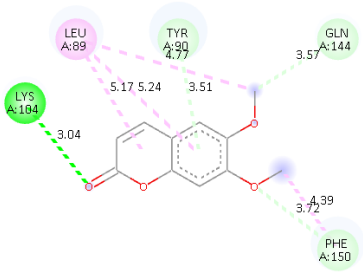


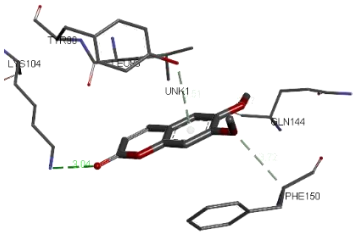
6. Sesamin



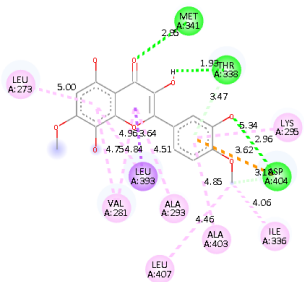


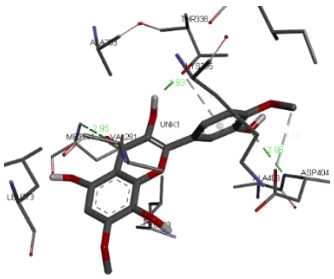
7. Aesculetin dimethyl ether



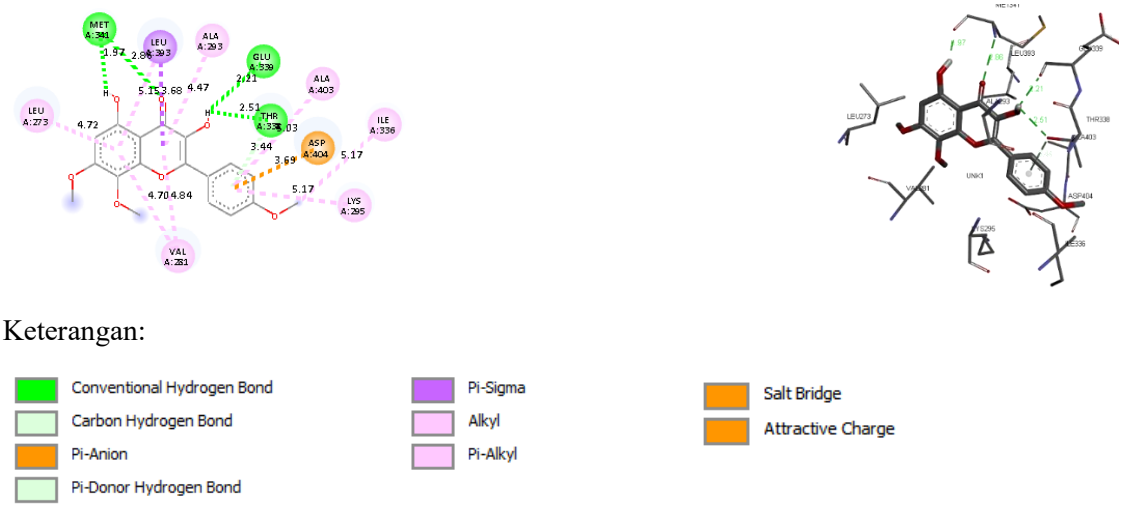


8. Gossypetin 7,4'-dimethyl ether





9. Tambulin



Gambar 4. Interaksi antara protein dan ligan berdasarkan visualisasi 2D (kiri) dan 3D (kanan)

Berbeda dengan warna biru yang mewakili ikatan karbon hidrogen yang memiliki sifat yang berbeda karena ikatan antara C dan H memiliki elektronegativitas rendah sehingga tidak memiliki muatan parsial positif dan bersifat non-polar seperti pada residu asam amino THR 338 (Lirioresinol B) dan ASP 404 (Eudesmin, Epieudesmin dan Lirioresinol B). Oleh karena itu dikelompokkan ke dalam jenis interaksi hidrofobik.

d. Interaksi yang Terjadi antara Ligan dengan Protein Target

Analisis interaksi antara protein target dan ligan dilakukan untuk mengidentifikasi residu asam amino dari protein yang berperan dalam pembentukan ikatan dengan ligan berdasarkan hasil visualisasi 2D menggunakan aplikasi *Biovia Discovery Studio* seperti ditunjukkan pada gambar 4. Data yang diperoleh ditunjukkan pada tabel 6.

Interaksi antara ligan dengan reseptor menghasilkan interaksi berupa ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik dan interaksi elektrostatik seperti ditunjukkan pada tabel 4.6 dan gambar 4.4. Berdasarkan tabel tersebut ligan natif berikatan dengan 7 asam amino di mana 5 asam amino membentuk ikatan hidrogen dan 2 asam amino berinteraksi elektrostatis. Sedangkan Ligan kontrol yaitu Imatinib berikatan dengan 8 asam amino dengan 3 asam amino yang berikatan hidrogen dan 5 asam amino berinteraksi hidrofobik. Imatinib memiliki 2 interaksi asam amino yang mirip dengan ligan natif yaitu ASN 391 dan ASP 404 yang berikatan hidrogen.

Hasil interaksi ligan uji dan reseptor yang memiliki kemiripan residu asam amino dengan ligan natif adalah Lirioresinol B dengan 4 asam amino di antaranya 2 berikatan hidrogen yaitu ARG 388 dan MET 341 serta 2 berinteraksi hidrofobik yaitu THR 338 dan ASP 404. Gossypetin 7,4'-dimethyl ether juga dengan jumlah yang sama di antaranya 3 berikatan hidrogen yaitu ASP 404, MET 341 dan THR 338 serta 1 berikatan hidrofobik yaitu LYS 295. Jumlah yang sama juga terdapat pada Tambulin di antaranya 2 berikatan hidrogen yaitu MET 341 dan THR 338 serta 2 berikatan hidrofobik yaitu ASP 404 dan LYS 295. Selanjutnya Sesamin dengan 2 asam amino yang berikatan hidrogen yaitu THR 338 dan ASP 404. Kemudian Epieudesmin dengan 1 asam amino yang berinteraksi hidrofobik yaitu ASP 404 serta Eudesmin yang berikatan hidrogen yaitu ASP 404. Sedangkan Aesculetin dimethyl ether tidak memiliki asam amino yang mirip dengan ligan natif.

Hasil interaksi ligan uji dan reseptor yang memiliki kemiripan residu asam amino dengan ligan kontrol adalah Eudesmin dengan 6 asam amino di antaranya 1 berikatan hidrogen yaitu ASP 404 serta 5

berikatan hidrofobik yaitu TYR 340, GLY 344, VAL 281, LEU 393, LEU 273 dan ALA 403. Selanjutnya Gossypetin 7,4'-dimethyl ether dengan 5 asam amino di antaranya 1 berikatan hidrogen yaitu ASP 404 serta 4 berikatan hidrofobik yaitu ALA 403, LEU 393, VAL 281 dan LEU 273. Sesamin juga memiliki jumlah interaksi yang sama di antaranya 1 berikatan hidrogen yaitu ASP 404 serta 4 berikatan hidrofobik yaitu ALA 403, LEU 393, VAL 281 dan LEU 273. Begitu halnya dengan Tambulin yang semuanya berikatan hidrofobik yaitu VAL 281, LEU 273, LEU 393, ALA 403 dan ASP. Epieudesmin juga memiliki jumlah interaksi yang sama yang semuanya berikatan hidrofobik yaitu LEU 273, VAL 281, LEU 393, ASP 404 dan ALA 403. Selanjutnya Lirioresinol B sebanyak 4 asam amino yang semuanya berinteraksi hidrofobik yaitu VAL 281, LEU 393, LEU 273 dan ASP 404. Sedangkan Aesculetin dimethyl ether tidak memiliki asam amino yang mirip dengan ligan kontrol.

Hasil interaksi ligan uji dan reseptor yang memiliki kemiripan residu asam amino dengan ligan natif dan ligan kontrol adalah Eudesmin, Sesamin dan Gossypetin 7,4'-dimethyl ether dengan 1 asam amino yang berikatan hidrogen yaitu ASP 404. Selanjutnya Epieudesmin, Lirioresinol B dan Tambulin juga dengan 1 asam amino yang sama yaitu ASP 404 akan tetapi berinteraksi hidrofobik. Sedangkan Aesculetin dimethyl ether tidak ada interaksi asam amino yang mirip dengan ligan natif dan ligan kontrol. Selain itu, ASP 404 menunjukkan residu yang berperan penting pada enzim Tyrosine Kinase yang dapat membentuk ikatan hidrogen atau interaksi hidrofobik.

Tabel 6. Interaksi antara ligan dengan protein target berdasarkan hasil docking

No	Ligan	Interaksi antara residu asam amino dengan ligan			
		Ikatan Hidrogen		Interaksi Hidrofobik	Interaksi elektrostatik
		Residu	- H (Å)		
1	Ligan Natif (ANP)	ASP 404	2,05 & 2,24	-	ARG 388
		ASN 391	3,29 & 2,49		LYS 295
		ARG 388	2,84		
		MET 341	1,90		
		THR 338	2,14 & 2,39		
2	Imatinib (kontrol)	ASP 348	2,93	ALA 403	
		ASN 391 [a)]	2,36	LEU 393	
		ASP 404 [a)]	2,27 & 2,15	VAL 281	
				LEU 273	
				TYR 340	
3	Epieudesmin	THR 338	3,07 & 2,77	ALA 390	ASP 348 [b)]
		SER 345	3,26	LEU 273 [b)]	
				VAL 281 [b)]	
				LEU 393 [b)]	
				ALA 293	
				VAL 323	
				ASP 404 [a), b)]	
				ALA 403 [b)]	
				LYS 295	

4	Eudesmin	THR 338	3,07	TYR 340 [b)]	
		ASP 404 [a), b)]	2,89	GLY 344	
				VAL 281 [b)]	
				LEU 393 [b)]	
				LEU 273 [b)]	
				MET 341	
				LYS 295	
				ASP 404	
				ALA 403 [b)]	
				VAL 323	
				ILE 336	
				LEU 407	
				PHE 405	
5	Lirioresinol B	ARG 388 [a)]	3,01	VAL 281 [b)]	ARG 388
		LEU 273	3,76	LEU 393 [b)]	
		MET 341 [a)]	2,51	LEU 273 [b)]	
				ALA 293	
				THR 338 [a)]	
				ASP 404 [a), b)]	
6	Sesamin	THR 338 [a)]	4,09	ALA 403 [b)]	ASP 404
		ASP 404 [a), b)]	3,15	LEU 393 [b)]	
				VAL 281 [b)]	
				LEU 273 [b)]	
				GLY 344	
				ASP 404	
				LYS 295	
				ILE 336	
				PHE 405	
7	Aesculetin dimethyl ether	LYS 104	3,04	PHE 150	
		TYR 90	3,51	LEU 89	
				GLN 144	
8	Gossypetin 7,4'-dimethyl ether	ASP 404 [a), b)]	2,96	ILE 336	ASP 404
		MET 341 [a)]	2,95	ALA 403 [b)]	
		THR 338 [a)]	1,93	LEU 407	
				ALA 293	

				LEU 393 [b)]
				VAL 281 [b)]
				LEU 273 [b)]
				LYS 295 [a)]
9	Tambulin	MET 341 [a)]	1,97 & 2,86	VAL 281 [b)]
		GLU 339	2,21	LEU 273 [b)]
		THR 338 [a)]	2,51	LEU 393 [b)]
				ALA 293
				ALA 403 [b)]
				ASP 404 [a), b)]
				ILE 336
				LYS 295 [a)]

Keterangan : a) = kemiripan ikatan dengan ligan natif; b) = kemiripan ikatan dengan kontrol; (-H) = Jarak ikatan Hidrogen; HIS = Histidin, ILE = Isoleusin, LEU = Leusin, LYS = Lisin, MET = Metionin, PHE = Fenilalanin, THR= Treonin, TRP = Triptofan, dan VAL = Valin, ALA = Alanin, ARG = Arginin, ASP = Asam Aspartat, ASN = Asparagin, CYS = Sistein, GLU = Asam Glutamat, GLN = Glutamin, GLY = Glisin, PRO = Prolin, SER = Serin, dan TYR = Tirosin

Koban et al. (2022) mengemukakan bahwa keberadaan ikatan hidrogen memegang peranan krusial dalam meningkatkan stabilitas dan kualitas interaksi antara suatu senyawa dengan residu asam amino pada protein target. Di samping itu, tingkat stabilitas kompleks ligan-reseptor juga diregulasi oleh interaksi hidrofobik. Eksistensi ikatan hidrofobik ini berfungsi meminimalkan kontak antara residu nonpolar dengan molekul air, yang berisiko memicu denaturasi struktur protein serta hilangnya fungsi katalitik enzim. Dengan demikian, adanya kemiripan profil interaksi hidrofobik pada residu asam amino yang kongruen, ditambah dengan terbentuknya ikatan hidrogen pada kedua senyawa, menjadi indikator kuat bahwa kompleksitas ikatan antara ligan dan protein target tersebut memiliki stabilitas yang tinggi.

Naufa et al. (2022) menegaskan bahwa analisis residu asam amino dilakukan untuk memetakan karakteristik ikatan yang terbentuk antara ligan dan reseptor, yang umumnya meliputi ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, serta interaksi elektrostatik. Pembentukan ikatan hidrogen antara ligan uji dengan residu asam amino yang kongruen pada ligan natif atau ligan pembanding mengindikasikan adanya kemiripan profil interaksi, yang sekaligus mencerminkan kesamaan aktivitas biologisnya. Sementara itu, interaksi hidrofobik—yang dicirikan oleh kecenderungan molekul nonpolar untuk menghindari lingkungan akuatik dan mengelompok di bagian dalam struktur globular protein—bersama dengan interaksi elektrostatik, berperan penting dalam memperkokoh stabilitas konformasi kompleks. Berdasarkan kemiripan pola interaksi tersebut dengan ligan natif dan ligan kontrol, dapat diidentifikasi bahwa ligan Eudesmin, Sesamin, dan Gossypetin 7,4'-dimethyl ether menunjukkan kemiripan aktivitas terapeutik. Di sisi lain, senyawa Epieudesmin, Lirioresinol B, dan Tambulin lebih menonjol dalam hal stabilitas konformasi kompleksnya.

Hal yang sama juga dijelaskan oleh (Hakiki et al., (2024) bahwa Ikatan hidrogen mencerminkan adanya interaksi dipol–dipol yang paling kuat, yang terjadi antara atom hidrogen pada suatu molekul dengan atom elektronegatif seperti nitrogen, oksigen, atau fluor pada molekul lain. Di sisi lain, interaksi hidrofobik berperan penting dalam meningkatkan kestabilan struktur protein dengan memfasilitasi pengaturan residu asam amino hidrofilik agar berada di lingkungan yang lebih hidrofobik. Interaksi ini juga berkontribusi dalam menentukan residu asam amino yang berperan signifikan dalam mempertahankan kestabilan konformasi protein.

Jarak ikatan hidrogen juga memberikan gambaran penting terkait kestabilan interaksi antara ligan dengan reseptor. Berdasarkan tabel 4.5 dapat dilihat bahwa ligan natif, ligan kontrol (Imatinib),

Epieudesmin, Eudesmin, Gossypetin 7,4'-dimethyl ether dan Tambulin menghasilkan jarak ikatan hidrogen sesuai dengan ketentuan yaitu pada rentang 2,5-3,5 Å yang menunjukkan bahwa interaksinya adalah stabil Sedangkan ligan yang lain terdapat 1 asam amino yang memiliki jarak ikatan di atas 3,5 Å yaitu Lirioresinol B pada (LEU 273 = 3,76 Å), Sesamin (THR 338 = 4,09 Å) dan Aesculetin dimethyl ether (TYR 90 = 3,51 Å) yang dapat menurunkan kestabilan interaksi yang terjadi. Adanya interaksi hidrofobik dan elekstrostatik dari semua ligan juga dapat meningkatkan kestabilan karena terjadinya interaksi nonpolar dan mengurangi interaksi dengan air. Sehingga kombinasi antara ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik dan interaksi elektrostasik membuat interaksi antara ligan dengan protein menjadi lebih kuat dan stabil. Oleh karena itu, semua ligan yang diuji adalah stabil dan diprediksi dapat menghambat aktivitas protein tyrosine-protein kinase sebagai antikanker.

Menurut Naufa et al. (2022), homologi atau kemiripan residu asam amino dengan ligan natif mengindikasikan kemampuan ligan uji dalam menginhibisi aktivitas protein target, sehingga berpotensi memiliki efikasi terapeutik yang setara. Pada interaksi tersebut, jarak ikatan hidrogen yang ideal dan memenuhi kriteria validitas berada pada rentang 2,5 hingga 3,5 Å. Jarak spasial interaksi ini memegang peranan krusial dalam menentukan kekuatan serta stabilitas ikatan kompleks antara ligan dan reseptor. Konsekuensinya, jika jarak antar-atom tersebut terlampau dekat atau terlalu jauh dari ambang batas spesifik, ikatan yang terbentuk akan menjadi tidak stabil dan rentan mengalami disosiasi (terlepas).

Lebih lanjut Koban et al. (2022) menjelaskan bahwa kekuatan ikatan hidrogen berbanding terbalik dengan jarak spasialnya, di mana jarak yang renggang akan menghasilkan interaksi yang lemah. Sebaliknya, semakin pendek jarak ikatan hidrogen yang terbentuk antara ligan dengan residu asam amino pada reseptor, maka energi afinitas pengikatan kompleks tersebut akan menjadi kian besar dan stabil.

Hasil Evaluasi Profil Farmakokinetik dan toksisitas

a. Hasil Evaluasi Parameter ADME (Absorbsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi)

1. Hasil Prediksi Absorbsi

Prediksi absorbsi berdasarkan 2 parameter yaitu absorpsi gastrointensitnal dan permeabilitas kulit berdasarkan nilai log Kp. Hasil prediksi absorbsi yang diperoleh dari server web Swiss ADME ditunjukkan pada tabel 7.

Tabel 7. Hasil prediksi absorbsi menggunakan server web Swiss ADME

No	Ligan	Absorbsi gastrointestinal (GI)	Log Kp (permeabilitas kulit)
1	Imatinib (kontrol)	Tinggi	-6,81 cm//s
2	Epieudesmin	Tinggi	-6,57 cm/s
3	Eudesmin	Tinggi	-6,57 cm/s
4	Lirioresinol B	Tinggi	-7,27 cm/s
5	Sesamin	Tinggi	-6,56 cm/s
6	Gossypetin 7,4'-dimethyl ether	Tinggi	-6,67 cm/s
7	Tambulin	Tinggi	-6,17 cm/s

Absorbsi gastrointestinal atau *Human Intestinal Absorption (HIA)* didefinisikan sebagai proporsi obat yang mampu diserap oleh usus manusia. Nilai ini dihitung berdasarkan akumulasi bioavailabilitas dan absorpsi yang ditinjau dari rasio ekskresi melalui urin, empedu, dan feses. Dalam analisis komputasi menggunakan SwissADME, HIA mengindikasikan derajat penyerapan zat aktif, di mana senyawa diklasifikasikan ke dalam kategori *High* (tinggi) atau *Low* (rendah) sesuai dengan kemampuan

penyerapannya Hakiki et al., (2024). Berdasarkan tabel 4.6 dapat dilihat bahwa ligan natif, ligan kontrol dan ligan uji memiliki kemampuan absorbsi gastrointestinal dengan kategori tinggi yang bermakna dapat diserap dengan baik oleh usus. Selain itu juga hal ini mengindikasikan bahwa senyawa-senyawa tersebut berpotensi memiliki bioavailabilitas oral yang baik, yang merupakan karakteristik penting dalam pengembangan obat berbasis rute oral.

Permeabilitas kulit yang dinyatakan sebagai nilai log Kp mencerminkan kemampuan suatu senyawa untuk melewati membran kulit dan menjadi parameter penting dalam pengembangan obat melalui rute transdermal (Abdullah et al., 2021). Semakin negatif nilai log Kp (dengan Kp dalam cm/s), semakin rendah kemampuan molekul tersebut untuk menembus kulit (Daina et al., 2017). Begitu juga sebaliknya, senyawa dengan log Kp > -2,5 menunjukkan permeabilitas tinggi, yang dipengaruhi oleh sifat lipofilik moderat dari struktur senyawa. Struktur lipofilik, seperti cincin aromatik dan rantai alkil, memungkinkan penetrasi senyawa melalui membran lipid (Rasida et al., 2024). Berdasarkan tabel 4.6 dapat dilihat bahwa nilai log Kp seluruh ligan yaitu ligan kontrol dan ligan uji berada di bawah -2,5 yaitu pada rentang −6,17 hingga −7,27 cm/s. Nilai ini tergolong ke dalam permeabilitas rendah, sehingga sulit untuk menembus membrn kulit. Oleh karena itu, senyawa-senyawa tersebut tidak optimal untuk rute transdermal, namun tetap menguntungkan untuk rute oral karena mengurangi risiko absorpsi tidak terkendali melalui kulit. Eudesmin, epieudesmin, dan sesamin menunjukkan nilai log Kp yang relatif serupa dengan imatinib, menandakan kemiripan sifat fisikokimia terkait permeabilitas membran.

2. Hasil Prediksi Distribusi

Prediksi distribusi berdasarkan 2 parameter yaitu parameter *BBB* (*Blood-Brain Barrier*) dan Substrat *P-gp* (*P-glikoprotein subsrat*) berpengaruh terhadap pendistribusian obat dalam tubuh**.** Hasil prediksi distribusi yang diperoleh dari server web Swiss ADME ditunjukkan pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil prediksi distribusi menggunakan server web Swiss ADME

No	Ligan	Parameter *BBB*	Subsrat *P-gp*
1	Imatinib (kontrol)	Tidak	Ya
2	Epieudesmin	Ya	Tidak
3	Eudesmin	Ya	Tidak
4	Lirioresinol B	Tidak	Ya
5	Sesamin	Ya	Tidak
6	Gossypetin 7,4'-dimethyl ether	Tidak	Tidak
7	Tambulin	Tidak	Tidak

Keterangan : *BBB = Blood-Brain Barrier; P-gp = P-glycoprotein*

Blood Brain Barrier (BBB) atau sawar darah otak merupakan mekanisme protektif yang tersusun atas sel-sel endotel dengan sambungan rapat, yang berperan dalam mengatur dan membatasi perpindahan zat dari sirkulasi darah menuju jaringan otak. Keberadaan *BBB* digunakan sebagai parameter untuk menilai kemampuan suatu obat dalam menembus penghalang tersebut. Obat yang ditujukan untuk bekerja pada sistem saraf pusat harus memiliki kemampuan menembus sawar darah otak, sehingga sifat ini menjadi salah satu karakteristik yang sangat penting. Sebaliknya, obat yang tidak ditargetkan untuk sistem saraf pusat sebaiknya tidak melintasi sawar darah otak guna menghindari potensi timbulnya efek samping pada jaringan otak (Hakiki et al., 2024).

Berdasarkan tabel 8 menunjukkan bahwa Epieudesmin, Eudesmin dan Sesamin berpotensi menembus BBB, sedangkan Lirioresinol B, Gossypetin 7,4'-dimethyl ether dan Tambulin menunjukkan ketidakmampuan menembus BBB seperti halnya dengan imatinib sebagai kontrol. Hal ini penting karena

parameter *BBB* dapat menjadi keuntungan atau risiko tergantung pada target terapi. Untuk obat antikanker non-sentral, kemampuan *BBB* yang rendah adalah hal yang diinginkan untuk meminimalkan efek samping neurologis.

Substrat P-gp (P-glycoprotein) umumnya merupakan senyawa amfipatik dengan tingkat hidrofobisitas relatif tinggi, sering kali memiliki struktur cincin aromatik serta atom nitrogen bermuatan positif. P-gp berperan sebagai transporter efluks yang memompa senyawa keluar dari dalam sel sehingga berfungsi mengatur proses absorpsi dan distribusi obat agar tidak terjadi akumulasi berlebihan (Rasida, R., dkk., 2024). Berdasarkan tabel 4.7 sebagian besar senyawa uji tidak dapat menjadi substrat P-gp, berbeda dengan imatinib (kontrol) dan lirioresinol B. Tidak menjadi substrat P-gp mengindikasikan bahwa senyawa tersebut memiliki risiko efluks sehingga berpotensi meningkatkan konsentrasi obat, resistensi obat dan rendahnya bioavailabilitas oral.

Hakiki et al. (2024) juga menjelaskan bahwa prediksi distribusi dengan parameter substrat Pglikoprotein (Pgp) menjadi penting karena Pglikoprotein adalah salah satu pendistribusi obat yang menentukan bioavaibilitas berbagai obat. Salah satu peran utama P-gp adalah sebagai penghalang biologis dan melindungi sistem saraf pusat (SSP) dari xenobiotik atau racun seperti penghalang toksin pada darah-otak.

3. Hasil Prediksi Metabolisme

Sitokrom P450 merupakan enzim vital yang mayoritas ditemukan di organ hati dan berperan dalam oksidasi xenobiotik serta membuat molekul obat menjadi tidak aktif. Dalam pengembangan kandidat obat baru, prediksi mengenai peran molekul sebagai substrat atau penghambat sitokrom P450 penting dilakukan khususnya pada molekul substrat CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, dan CYP3A4 yang menyusun berbagai model isoform sitokrom (Hakiki, A., dkk., 2024). Hasil prediksi yang diperoleh dari server web Swiss ADME ditunjukkan pada tabel 9.

Tabel 4.9 Tabel hasil prediksi metabolisme menggunakan server web Swiss ADME

No	Ligan	CYP1A2 inhibitor	CYP2C19 inhibitor	CYP2C9 inhibitor	CYP2D6 inhibitor	CYP3A4 inhibitor
1	Imatinib (kontrol)	Tidak	Ya	Ya	Ya	Ya
2	Epieudesmin	Tidak	Tidak	Tidak	Ya	Ya
3	Eudesmin	Tidak	Tidak	Tidak	Ya	Ya
4	Lirioresinol B	Tidak	Tidak	Tidak	Ya	Tidak
5	Sesamin	Tidak	Ya	Tidak	Ya	Ya
6	Gossypetin 7,4'-dimethyl ether	Ya	Tidak	Ya	Ya	Ya
7	Tambulin	Ya	Tidak	Ya	Ya	Ya

Keluarga CYP450 yaitu CYP1, CYP2 dan CYP3 memiliki fungsi utama yaitu biotransformasi yang bermakna proses metabolisme yang dilakukan hati untuk mengubah atau memodifikasi zat yang masuk ke dalam tubuh, seperti obat-obatan. Berbeda dengan fungsi CYP lain seperti CYP4 yaitu untuk metabolisme asam lemak. Contoh lainnya adalah CYP 11, CYP 17, CYP 19 untuk biosintesis steroid (Abdelmonem et al., 2024).

CYP3A4 (sub famili dari CYP3) merupakan isoenzim sitokrom P450 yang paling dominan diekspresikan di hati serta memiliki signifikansi klinis yang tinggi, karena berperan dalam proses biotransformasi sekitar 30,2% obat dan senyawa endogen untuk membantu eliminasi zat yang tidak

dibutuhkan oleh tubuh. Enzim ini memiliki kemampuan mengoksidasi berbagai substrat berukuran besar dengan karakteristik struktur yang beragam, yang didukung oleh adanya rongga pengikatan substrat yang luas. Selain itu, CYP2C9 (sub famili dari CYP2) juga termasuk isoenzim yang banyak diekspresikan di hati dan menempati urutan kedua tertinggi di antara isoform CYP lainnya. Penghambatan terhadap kedua isoenzim tersebut dapat memicu terjadinya interaksi obat secara farmakokinetik, yang berpotensi menyebabkan peningkatan risiko toksisitas akibat menurunnya pembersihan obat sehingga senyawa aktif tetap bertahan lebih lama di dalam tubuh (Abdelmonem et al., 2024).

Berdasarkan tabel 4.8, Imatinib (kontrol) termasuk ligan yang berperan dalam menghambat 4 isoenzim yaitu CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6 dan CYP3A4 yang menunjukkan bahwa senyawa tersebut menghambat metabolisme enzim tersebut sehingga senyawa yang bergantung pada proses metabolisme enzim tersebut akan lebih lama berada di dalam tubuh. Sedangkan CYP1A2 tidak, yang berarti senyawa tersebut tidak mempengaruhi proses metabolisme dari CYP1A2.

Dengan demikian, senyawa atau ligan yang menunjukkan inhibisi CYP minimal cenderung lebih aman untuk dikembangkan lebih lanjut, terutama dalam terapi kombinasi. Dalam hal ini yaitu Lirioresinol B hanya menghambat CYP2D6, kemudian Epieudesmin dan Eudesmin menghambat CYP2D6 dan CYP3A4.

Pires et al. (2015)menjelaskan bahwa sitokrom P450 bertanggung jawab atas metabolisme banyak obat-obatan. Namun, penghambat (inhibitor) dari P450 dapat mengubah farmakokinetik obat-obat tersebut secara drastis. Oleh karena itu, sangat penting untuk menilai apakah suatu senyawa tertentu berpotensi menjadi substrat sitokrom P450. Dua isoform utama yang bertanggung jawab atas metabolisme obat adalah 2D6 dan 3A4.

4. Hasil Prediksi ekskresi

Ekskresi merupakan proses penting dalam menentukan jumlah obat yang dapat dieliminasi dari tubuh, sehingga berperan dalam menurunkan potensi efek toksik obat. Parameter yang digunakan untuk mengevaluasi proses ekskresi suatu senyawa adalah keterlibatannya dengan transporter ginjal *OCT2 (Organic Cation Transporter 2)* yang berperan dalam memfasilitasi pengeluaran senyawa kationik melalui ginjal dan *clearance*. Hasil prediksi ekskresi yang diperoleh dari server web Deep-PK ditunjukkan pada tabel 10.

Tabel 4.10 Hasil Prediksi ekskresi Menggunakan server web Deep-PK

No	Ligan	OCT2 inhibitor	Clearance [Log (ml/min/kg)]
1	Imatinib (kontrol)	Ya	8.63
2	Epieudesmin	Tidak	10,70
3	Eudesmin	Tidak	10,71
4	Lirioresinol B	Ya	10,88
5	Sesamin	Tidak	15,86
6	Gossypetin 7,4'-dimethyl ether	Tidak	9,67
7	Tambulin	Tidak	5,60

Keterangan : *OCT2 = Organic Cation Transporter 2*

Organic Cation Transporter (OCT2) adalah transporter penyerapan ginjal yang memainkan peran penting dalam disposisi dan pembersihan ginjal dari obat-obatan dan senyawa endogen. Substrat *OCT2* juga berpotensi menimbulkan interaksi yang merugikan dengan *inhibitor OCT2* yang diberikan secara bersamaan. Sedangkan pembersihan (Klirens) obat diukur dengan konstanta proporsionalitas *CLtot*, dan

terutama terjadi sebagai kombinasi pembersihan hepatik (metabolisme di hati dan pembersihan empedu) dan pembersihan ginjal (ekskresi melalui ginjal). Ini terkait dengan bioavailabilitas, dan penting untuk menentukan laju dosis untuk mencapai konsentrasi keadaan tunak. Pembersihan total yang diprediksi adalah log (CLtot) dari suatu senyawa tertentu diberikan dalam log (ml/min/kg) (Pires et al., 2015).

Berdasarkan tabel 4.10, Imatinib dan Lirioresinol B diprediksi sebagai *inhibitor OCT2*. Penghambatan ini dapat mengurangi pengangkutan obat lain yang merupakan substrat OCT2 ke dalam ginjal yang dapat meningkatkan risiko pada obat yang diekskresikan melalui ginjal. Sedangkan ligan yang lain tidak berperan sebagai *inhibitor OCT2* sehingga tidak menggangu proses ekskresi oleh ginjal.

Parameter pembersihan menunjukkan bahwa semakin tinggi nilai clearance, semakin cepat senyawa tersebut diekskresikan dari tubuh. Sesamin memiliki nilai clearance tertinggi (15,86). Hal ini menunjukkan bahwa tubuh mampu membersihkan senyawa ini jauh lebih efisien dibandingkan kontrol (Imatinib), sehingga risiko akumulasi zat di dalam jaringan lebih rendah. Lirioresinol B, Eudesmin, dan Epieudesmin memiliki nilai di kisaran 10,70–10,88, yang berarti pembersihannya lebih cepat daripada Imatinib (8,63). Sedangkan Tambulin memiliki nilai di bawah kontrol yaitu 5,60. Rendahnya nilai ini menunjukkan bahwa senyawa tersebut bertahan lebih lama di dalam tubuh yang berpotensi menyebabkan waktu paruh lebih panjang, namun juga dapat meningkatkan risiko akumulasi jika tidak diimbangi dengan profil toksisitas yang aman.

b. Hasil Evaluasi Parameter Toksisitas dan Target Organ

1. Hasil prediksi toksisitas berdasarkan LD50

Salah satu parameter yang digunakan untuk prediksi toksisitas adalah berdasarkan nilai LD50. Data ini diperoleh dari server web Protox seperti ditunjukkan pada tabel 11. Berdasarkan tabel 4.11 dapat dilihat bahwa ligan uji berada pada kelas toksisitas 4 dan 5, yang mengindikasikan tingkat toksisitas akut yang relatif rendah dibandingkan imatinib (kelas 3). Gossypetin 7,4'-dimethyl ether dan tambulin menunjukkan nilai LD50 yang sangat tinggi (>3000 mg/kg) termasuk kelas 5, menandakan tingkat keamanan yang baik.

Tabel 11. Hasil Prediksi Toksisitas menggunakan server web Protox

No	Senyawa Metabolit Sekunder	LD50 (mg/Kg)	Kelas Toksisitas
1	Imatinib (kontrol)	100	3
2	Epieudesmin	1500	4
3	Eudesmin	1500	4
4	Lirioresinol B	1500	4
5	Sesamin	1500	4
6	Gossypetin 7,4'-dimethyl ether	5000	5
7	Tambulin	3919	5

Kelas toksisitas ditetapkan berdasarkan *Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals* (GHS). Nilai LD50 dinyatakan dalam satuan (mg/Kg) yaitu kelas I berbahaya (fatal) jika tertelan (LD50 $\leq$ 5); kelas II berbahaya (fatal) jika tertelan (5 < LD50 $\leq$ 50); kelas III toksik jika tertelan (50 < LD50 $\leq$ 300); kelas IV berbahaya jika tertelan (300 < LD50 $\leq$ 2000); kelas V mungkin berbahaya jika tertelan (2000 < LD50 $\leq$ 5000) dan kelas VI tidak toksik (LD50 > 5000) (Banerjee et al., 2024).

2. Hasil prediksi toksisitas target organ

Target organ juga merupakan salah satu parameter penting dalam prediksi toksisitas suatu senyawa. Data ini diperoleh dari server web Protox seperti ditunjukkan pada tabel 12.

Tabel 12. Hasil prediksi toksisitas target organ

No	Senyawa Metabolit sekunder	Hepar	Karsinogen	Imun	Mutagen	Sitotoksitas
1	Imatinib (kontrol)	+	-	+	-	-
2	Epieudesmin	-	-	+	-	-
3	Eudesmin	-	-	+	-	-
4	Lirioresinol B	-	-	+	-	-
5	Sesamin	-	+	+	-	-
6	Gossypetin 7,4'-dimethyl ether	-	-	+	-	-
7	Tambulin	-	-	+	-	-

Keterangan : (+) = Aktif; (-) = Tidak aktif

Berdasarkan tabel 12 menunjukkan bahwa semua ligan berpotensi memiliki aktivitas imunotoksik. Selain itu Imatinib (kontrol) diprediksi bersifat hepatotoksik dan Sesamin diprediksi bersifat karsinogen. Sedangkan sebagian besar ligan tidak bersifat hepatotoksik, karsinogenik, mutagenik, maupun sitotoksik.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa penapisan senyawa metabolit sekunder tumbuhan Andaliman menggunakan database KNApSAcK dan Hukum Lipinski menghasilkan 7 senyawa yang memenuhi kriteria sebagai kandidat obat (drug-likeness), yaitu (+)-Epieudesmin, (+)-Eudesmin, (+)-Lirioresinol B, (+)-Sesamin, Aesculetin dimethyl ether, Gossypetin 7,4'-dimethyl ether, dan Tambulin. Melalui simulasi molecular docking, senyawa Sesamin terbukti memiliki potensi terbaik sebagai penghambat enzim tirosin kinase dengan nilai energi ikatan (binding affinity) sebesar -10,4 kcal/mol, yang melampaui efikasi kontrol obat Imatinib (-9,8 kcal/mol). Sementara itu, analisis interaksi ligan-protein menunjukkan bahwa hampir seluruh senyawa kandidat memiliki kemiripan residu asam amino dengan ligan natif dan ligan kontrol, kecuali pada senyawa Aesculetin dimethyl ether.Senyawa metabolit sekunder Andaliman secara umum memiliki profil farmakokinetik yang baik dengan daya serap usus (HIA) kategori tinggi. Mayoritas senyawa juga diprediksi tidak bersifat hepatotoksik, mutagenik, maupun sitotoksik, sehingga aman untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai kandidat obat antikanker.

REFERENSI

Abdelmonem, B. H., Abdelaal, N. M., Anwer, E. K. E., Rashwan, A. A., Hussein, M. A., Ahmed, Y. F., Khashana, R., Hanna, M. M., & Abdelnaser, A. (2024). Decoding the Role of CYP450 Enzymes in Metabolism and Disease: A Comprehensive Review. In *Biomedicines* (Vol. 12, Number 7, pp. 1–38). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). https://doi.org/10.3390/biomedicines12071467

Abdullah, S. S., Putra, P. P., Antasionasti, I., Rundengan, G., Suoth, E. J., Abdullah, R. P. I., & Abdullah, F. (2021). Analisis Sifat Fisikokimia, Farmakokinetik Dan Toksikologi Pada Pericarpium Pala (Myristica fragransa) Secara Artificial Intelligence. *CHEMISTRY PROGRESS*, *14*(2), 81. https://doi.org/10.35799/cp.14.2.2021.37112

Alrumaihi, F., Rahmani, A. H., Prabhu, S. V., Kumar, V., & Anwar, S. (2025). The Role of Plant-Derived Natural Products as a Regulator of the Tyrosine Kinase Pathway in the Management of Lung Cancer. In *Current Issues in Molecular Biology* (Vol. 47, Number 7). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). https://doi.org/10.3390/cimb47070498

Bagnyukova, T., Serebriiskii, I. G., Zhou, Y., Hopper-Borge, E. A., Golemis, E. A., & Astsaturov, I. (2010). Chemotherapy and signaling: How can targeted therapies supercharge cytotoxic agents? In *Cancer Biology and Therapy* (Vol. 10, Number 9, pp. 839–853). https://doi.org/10.4161/cbt.10.9.13738

Banerjee, P., Kemmler, E., Dunkel, M., & Preissner, R. (2024). ProTox 3.0: A webserver for the prediction of toxicity of chemicals. *Nucleic Acids Research*, *52*(W1), W513–W520. https://doi.org/10.1093/nar/gkae303

Benet, L. Z., Hosey, C. M., Ursu, O., & Oprea, T. I. (2016). BDDCS, the Rule of 5 and drugability. In *Advanced Drug Delivery Reviews* (Vol. 101, pp. 89–98). Elsevier B.V. https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.05.007

Chelliah, D. A. (2008). Biological Activity Prediction of an Ethno Medicinal Plant Cinnamomum camphora Through Bio-informatics. In *Ethnobotanical Leaflets* (Vol. 12).

Daina, A., Michielin, O., & Zoete, V. (2017). SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*, *7*. https://doi.org/10.1038/srep42717

Fauziah, A., Fatharani, A., Nurawaliah, C. M., Rivianto, F. A., Sakina, I. V., Rahmawati, M., & Nurfadhila, L. (2023). Molecular Docking Of Compound With Potential As Anti-breast Cancer: Literature Review. *JOURNAL OF PHARMACEUTICAL AND SCIENCES*, *6*(April-Juni 2023). https://www.journal-jps.com

Ferreira, R. G. S., Silva, W. F., Veiga, V. F., Lima, Á. A. N., & Lima, E. S. (2017). Physicochemical characterization and biological activities of the triterpenic mixture α,β-amyrenone. *Molecules*, *22*(2), 1–9. https://doi.org/10.3390/molecules22020298

Globocan (2024). *Strategi Indonesia dalam Upaya Melawan Kanker*.

Hakiki, A., Banjarmasin, M., & Selatan, K. (2024). Studi Molecular Docking dan Prediksi ADMET Senyawa Turunan Kurkumin Sebagai Inhibitor Kasein Kinase 2-α. *Jurnal Ilmu Kefarmasian*, *5*(2). https://www.rcsb.org/.

Hanifitri, A., Ambarsari, L., & Mubarik, N. R. (2023). Pemodelan protein dan analisis molecular docking enzim β-glukanase solat Bacillus subtilis W3.15. *E-Journal Menara Perkebunan*, *91*(1), 59–71. https://doi.org/10.22302/iribb.jur.mp.v91i1.523

Huang, L., & Fu, L. (2015). Mechanisms of resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors. In *Acta Pharmaceutica Sinica B* (Vol. 5, Number 5, pp. 390–401). Chinese Academy of Medical Sciences. https://doi.org/10.1016/j.apsb.2015.07.001

J.B.Harborne. (1971). Short Communication the Structure of Tambuletin. *Phytochemistry*, *10*(1971, Vol. 10), 883–885.

John, S. R., & Lamberton, J. A. (1991). Alkaloids of Geijera Salicifolia Schott. (Family Rutaceae): the Identification of Platydesmine and Platydesmine Acetate. *Aust. J. Chem*, *19*, 1991–1994.

Kartika, W. A., Silalahi, A. A., Athaillah, A., Rambe, R., & Fattara, F. P. (2024). Molecular Docking Meniran (Phillanthus niruri L.) Terhadap Penghambatan Enzim Tyrosine Kinase Sebagai Antikanker. *Indonesian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, *07*(02), 14–024. https://doi.org/10.32734/idjpcr.v7i2.179

Kesuma, D., Siswandono, S., Purwanto, B. T., & Hardjono, S. (2018). Uji in silico Aktivitas Sitotoksik dan Toksisitas Senyawa Turunan N-(Benzoil)-N'- feniltiourea Sebagai Calon Obat Antikanker. *JPSCR : Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, *3*(1), 1. https://doi.org/10.20961/jpscr.v3i1.16266

Koban, M. A. G., Lestari, S. R., & Setiowati, F. K. (2022). Analisis In Silico Naringenin dari Umbi Akar Batu (Gerrardanthus macrorhizus Harv.ex Benth. & Hook.f.) sebagai Antitusif terhadap Reseptor N-methyl-D-aspartate. *Biota : Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, *7*(Vol. 7(3): 172-182, Oktober 2022), 172–182. https://doi.org/10.24002/biota.v7i3.5912

Kusumawardhani, A. R., Yuniar, A., Ariyanto, E. J., & Maariz, M. F. (2022). Target Aksi Obat Gefitinib Pada Reseptor Tirosin Kinase Terhadap Penyakit Kanker Paru. *Jurnal Pendidikan Dan Konseling*, *4*(Volume 4 Nomor 6 Tahun 2022), 9017–9023.

Lin, R. C., Skaltsounis, A. L., Seguin, E., Tillequin, F., & Koch, M. (1994). Phenolic constituents of Selaginella doederleinii. *Planta Medica*, *60*(2), 168–170. https://doi.org/10.1055/s-2006-959443

Lipinski, C. A. (2004). Lead- and drug-like compounds: The rule-of-five revolution. In *Drug Discovery Today: Technologies* (Vol. 1, Number 4, pp. 337–341). https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2004.11.007

Marcos, M., Jimenez, C., Villaverde, M. C., Riguera, R., Castedo, L., & Stermitz, F. (1990). Lignans and other constituents from South and Central American Zanthoxylum species. *Planta Medica*, *56*(1), 89–91. https://doi.org/10.1055/s-2006-960893

Naufa, F., Mutiah, R., Yen, Y., & Indrawijaya, A. (2022). Studi in Silico Potensi Senyawa Katekin Teh Hijau (Camellia sinensis) sebagai Antivirus SARS CoV-2 terhadap Spike Glycoprotein (6LZG) dan Main Protease (5R7Y). In *J.Food Pharm.Sci* (Vol. 2022, Number 1). www.journal.ugm.ac.id/v3/JFPA

Nuraini, M. (2021). *Studi In Silico Senyawa Galangin Lengkuas (Alpinia galanga) Sebagai Antikanker Terhadap Kanker Payudara Computational*. https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/

Pires, D. E. V, Blundell, T. L., & Ascher, D. B. (2015). pkCSM: predicting small-molecule pharmacokinetic properties using graph-based signatures. *Journal of Medicinal Chemistry*, *58*(Vol 58/Issue 9), 1–4. https://doi.org/https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b00104

Pratiwi, D., Renny Panduwati, D., Mutia, L., Widia Ningsih, S., Setiyawati, D., & Kesehatan Kementerian Kesehatan Medan, P. (2024). Antioxidant Bioactivity of Andaliman (Zanthoxylum acanthopodium) as an Endemic Plant of North Sumatera. In *Jurnal Sains Kesehatan* (Vol. 31, Number 2).

Rasida, R., Dwi, Y., Pinanga, M., Saputro, A. H., Damayanti, S., Penulis, I., Farmakokimia, K. K., Farmasi, S., Teknologi Bandung, I., Keilmuan, K., Farmasi, B., & Bandung, I. T. (2024). Komparasi Profil ADMET Senyawa Sintetik Dan Herbal Antimalaria: Pendekatan In Silico. In *Acta Pharmaceutica Indonesia* | (Vol. 49, Number hlm). https://biosig.lab.uq.edu.au/pkc

Rohaniah, S. A., Mulyanti, D., & Fakih, T. M. (2022). Uji Aktivitas Antiinflamasi Senyawa Turunan Asetogenin pada Daun Sirsak (Annona muricata L.) terhadap Reseptor Siklooksigenase-2 (COX-2) secara In Silico. *Bandung Conference Series: Pharmacy*, *3*(Vol. 3 No. 2 (2022), Hal: 217-224), 217–224. https://doi.org/10.29313/bcsp.v3i2.8500

Samad, A., Badshah, S., Khan, D., Ali, F., Amanullah, M., & Hanrahan, J. (2014). New prenylated carbazole alkaloids from Zanthoxylum armatum. *Journal of Asian Natural Products Research*, *16*(12), 1126–1131. https://doi.org/10.1080/10286020.2014.967228

Saputri, K. E., Fakhmi, N., Kusumaningtyas, E., Priyatama, D., & Santoso, B. (2016). Docking Molekular Potensi Anti Diabetes Melitus Tipe 2 Turunan Zerumbon Sebagai Inhibitor Aldosa Reduktase Dengan Autodock-Vina. *Chimica et Natura Acta*, *4*(Vol.4 No.1, April 2016: 16-20), 16–20. www.pdb.org

Saragih, D. E., & Arsita, E. V. (2019). Kandungan fitokimia Zanthoxylum acanthopodium dan potensinya sebagai tanaman obat di wilayah Toba Samosir dan Tapanuli Utara, Sumatera Utara. *PROS SEM NAS MASY BIODIV INDON*, *5*(Volume 5, Nomor 1, Maret 2019), 71–76. https://doi.org/10.13057/psnmbi/m050114

Susanti, N. M. P., Saputra, D. P. D., Hendrayati, P. L., Parahyangan, I. P. D. N., & Swandari, I. A. D. G. (2018). Molecular Docking Sianidin dan Peonidin Sebagai Antiinflamasi pada Aterosklerosis Secara In Silico. *Jurnal Farmasi Udayana*, *7*(1), 28–33. https://www.rcsb.org/

Sutandyo, N. (2016). *New Paradigm in Treating Cancer: Right on Target*. Acta Medica Indonesiana.

Syahputra, R., Utami, D., Widyaningsih, W., Dahlan, A., Soepomo, J., Janturan, S., Farmakologi dan FarmasiKlinik, D., & Ahmad Dahlan, U. (2022). Studi Docking Molekuler Aktivitas Penghambatan Enzim Tirosinase Ubi Jalar (Ipomoea batatas L. Lam) Molecular Docking Study Of Tyrosinase Enzyme Inhibition Activity Of Sweet Potatoes (Ipomoea batatas L. Lam). In *Pharmacon: JurnalFarmasi Indonesia* (Vol. 19, Number 1). http://pubchem.ncbi.n

Yang, C., Cheng, M., Lee, S., & Yang, C. (2009). Secondary Metabolites and Cytotoxic Activities from the Stem Bark of Zanthoxylum nitidum Molucca Islands , New Guinea , South China , Ryukyus , and at low altitudes throughout. *Helvetica Chimica Acta*, *6*, 846–857.

Yewale, C., Baradia, D., Vhora, I., Patil, S., & Misra, A. (2013). Epidermal growth factor receptor targeting in cancer: A review of trends and strategies. In *Biomaterials* (Vol. 34, Number 34, pp. 8690–8707). https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.07.100