

**SKRINING TARGET MOLEKULER KANDUNGAN KIMIA RIMPANG
KUNYIT PUTIH (*Curcuma zedoaria*) SEBAGAI ANTIKANKER
PAYUDARA DENGAN PENDEKATAN BIOINFORMATIKA DAN
ANALISIS *DOCKING* MOLEKULER**



Oleh:

Pratama Anggi Saputra

21154462A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIABUDI
SURAKARTA**

2018

**SKRINING TARGET MOLEKULER KANDUNGAN KIMIA RIMPANG
KUNYIT PUTIH (*Curcuma zedoaria*) SEBAGAI ANTIKANKER
PAYUDARA DENGAN PENDEKATAN BIOINFORMATIKA DAN
ANALISIS DOCKING MOLEKULER**

SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai derajat
Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh:

Pratama Anggi Saputra 21154462A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIABUDI
SURAKARTA**

2018

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul :

**SKRINING TARGET MOLEKULER KANDUNGAN KIMIA RIMPANG
KUNYIT PUTIH (*Curcuma zedoaria*) SEBAGAI ANTIKANKER
PAYUDARA DENGAN PENDEKATAN BIOINFORMATIKA DAN
ANALISIS *DOCKING* MOLEKULER**

Oleh :

Pratama Anggi Saputra
21154462A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 19 Desember 2018

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt

Pembimbing,

Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt

Pembimbing Pendamping,

Ika Nur Fitriani, S.Pd., M.Sc

Penguji

1. Dr. Gunawan Pamudji Widodo, M.Si., Apt
2. Dr. Jason Merari P., MM., M.Si., Apt
3. Dr. Supriyadi, M.Si
4. Dr. Rina Herowati, M.Si., Apt

PERSEMBAHAN

To my parents for their endless love and sacrifice.

To my mentor and lecturers

PERNYATAAN

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

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, Desember 2018



Pratama Anggi Saputra

KATA PENGANTAR



Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh

Puji Syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat dan kasih sayang-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini guna memenuhi persyaratan untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi (S. Farm) dari Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.

Skripsi ini berjudul “SKRINING TARGET MOLEKULER KANDUNGAN KIMIA RIMPANG KUNYIT PUTIH (*Curcuma zedoaria*) SEBAGAI ANTIKANKER PAYUDARA DENGAN PENDEKATAN BIOINFORMATIKA DAN ANALISIS *DOCKING* MOLEKULER”, dengan harapan dapat memberikan sumbangan terhadap kemajuan dunia pendidikan khususnya di bidang farmasi.

Skripsi ini tidak lepas dari dukungan dan bantuan dari beberapa pihak, baik material maupun spiritual. Oleh karena itu, pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada :

1. Prof. Dr. R.A. Oetari, S.U., M.M., M.Sc., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.
2. Dwi Ningsih, M.Farm., Apt. selaku Kepala Program Studi S1 Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.
3. Anita Nilawati, M.Farm., Apt. selaku pembimbing akademik atas segala bimbingan dan pengarahannya.
4. Dr Rina Herowati, M.Si., Apt. selaku pembimbing utama yang telah bersedia memberikan banyak dukungan, fasilitas, mendampingi, membimbing, memberi semangat serta bertukar pikiran sehingga membantu terselesaikannya skripsi ini.

5. Ika Nur Fitriani, S.Pd., M.Sc. selaku pembimbing pendamping yang telah membimbing, memberikan masukan, dan memberikan semangat yang tidak pernah lelah sehingga membantu terselesaikan skripsi ini.
6. Seluruh dosen Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta
7. Kedua orang tuaku tercinta atas doa, kasih sayang, semangat dan segala dukungannya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
8. Adikku atas semangat dan doanya.
9. Choirunnisa' Ilmi Nahandi atas segala dukungan, bantuan, doa, dan semangatnya.
10. Seluruh teman – teman seperjuangan S1 Farmasi angkatan 2015 atas dukungan, dan semangat.
11. Muksin Al Karim atas saran dan semangatnya.
12. Teman-teman SMAku geng Merah Manja atas semangat dan doanya.
13. Segenap pihak yang tidak bisa disebutkan satu demi satu telah membantu penulisan.

Semoga Allah Subhanahu Wa Ta 'ala memberikan balasan yang lebih baik pada mereka semua.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih sangat jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan adanya kritik serta saran yang diberikan dalam upaya penyempurnaan penulisan skripsi ini. Akhir kata, penulis berharap semoga apa yang telah penulis persembahkan dalam karya ini akan bermanfaat bagi pihak yang berkepentingan.

Wa 'alaikumsalam Warahmatullahi Wabarakatuh.

Surakarta, 19 Desember 2018

Penulis,

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL.....	i
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN.....	xi
INTISARI.....	xii
ABSTRACT	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Kanker.....	5
1. Kanker.....	5
2. Kanker payudara	5
3. Karakter sel kanker	6
4. Obat kanker konvensional	6
5. <i>Targeted drug therapy</i>	8
6. Target molekuler kanker payudara	9
B. Kuningit Putih.....	14
1. Klasifikasi	14
2. Morfologi.....	14
C. Aktivitas Antikanker Senyawa Kimia Rimpang Kuningit Putih	14
D. Penggunaan Komputer di Bidang Penemuan Obat.....	17
1. <i>Computer aided drug design</i>	17
2. Bioinformatika	17
3. BATMAN-TCM	18
4. <i>Docking</i> molekuler.....	19
E. Landasan Teori	19
F. Hipotesis	22

BAB III METODE PENELITIAN.....	23
A. Populasi dan Sampel.....	23
B. Variabel Penelitian.....	23
1. Identifikasi variabel utama	23
2. Klasifikasi variabel utama	23
3. Definisi operasional variabel utama	24
C. Alat dan Bahan.....	24
1. Alat	24
2. Bahan	25
D. Cara Kerja	25
1. Prediksi target molekuler menggunakan BATMAN TCM	25
2. Analisis hasil BATMAN-TCM	25
3. Cara kerja <i>docking</i> molekuler	26
E. Analisis Hasil <i>Docking</i> Molekuler.....	27
1. Validasi	27
2. Energi ikatan.....	27
3. Data interaksi	27
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	29
A. Hasil Prediksi Target Molekuler Menggunakan BATMAN TCM..	29
1. Validasi BATMAN-TCM.....	29
2. Hasil prediksi target molekuler.....	29
B. Preparasi Struktur Tiga Dimensi Makromolekul.....	31
C. Preparasi Ligan Uji	32
D. Validasi Metode <i>Docking</i>	33
E. Analisa dan Visualisasi Hasil <i>Docking</i>	36
1. Prostaglandin synthase 2 (1PXX).....	36
2. Estrogen reseptor alpha.....	41
3. <i>Heat Shock Protein</i> 90A	45
 BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	50
A. Kesimpulan	50
B. Saran	50
 DAFTAR PUSTAKA	51
 LAMPIRAN.....	56

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Sepuluh karakteristik dari sel kanker (Hanahan & Weinberg 2011)	6
2. Tamoxifen	9
3. Pola interaksi Tamoxifen dan ER α	9
4. Apitolisib	10
5. Lipatinib	10
6. Afatinib	11
7. Mekanisme EGFR	11
8. Jalur molekuler kanker payudara (KEGG 2018)	13
9. Skema jalannya penelitian	28
10. Hasil overlay ligan redocked dan ligan kristalografi (hijau) kristalografi (biru) redocking	34
11. Diagram interaksi Gweicurculactone (kanan) dibandingkan terhadap ligan asli (kiri)	38
12. Diagram interaksi Alismol (kanan) dibandingkan dengan ligan asli (kiri)	39
13. Diagram interaksi Curcumenol (kanan) dibandingkan dengan ligan asli (kiri)	40
14. Diagram interaksi senyawa λ (kanan) dibandingkan terhadap ligan asli (kiri)	43
15. Diagram interaksi Neocurdione (kanan) dibandingkan terhadap ligan asli (kiri)	44
16. Diagram interaksi Zerumbone epoxide (kanan) dibandingkan terhadap ligan asli (kiri)	45
17. diagram interaksi Gweicurculactone (kanan) dibandingkan terhadap ligan asli (kiri)	47
18. Diagram interaksi Procurcumenone (kanan) dibandingkan terhadap ligan asli (kiri)	48
19. Diagram interaksi Zerumin A (kanan) dibandingkan terhadap ligan asli (kiri)	49

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Daftar obat-obat antikanker antibodi monoklonal (Baudino 2015).	8
2. Obat molekul kecil (Lu et al. 2011)	8
3. Senyawa kimia dalam rimpang kunyit putih dengan aktivitas sitotoksik	14
4. Hasil prediksi target molekuler menggunakan BATMAN-TCM	30
5. Hasil prediksi BATMAN-TCM secara keseluruhan.....	31
6. Struktur terpilih	32
7. Grid center dan dimensi gridbox.....	33
8. RMSD ligan asli redocked	35
9. Hasil docking molekuler terhadap protein PTGS2	37
10. Hasil docking molekuler terhadap protein ESR1	42
11. Hasil docking molekuler terhadap protein HSP90A.....	46

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Validasi BATMAN-TCM	57
2. Hasil SystemDock.....	58
3. Gambar protein.....	60
4. Data hasil docking.....	65
5. Binding site protein uji.....	70
6. Interaksi ligan dan protein terpilih dalam ruang 3 dimensi	72
7. Interaksi ligan terbaik dari masing-masing protein.....	74

INTISARI

SAPUTRA, P.A., 2018, SKRINING TARGET MOLEKULER KANDUNGAN KIMIA RIMPANG KUNYIT PUTIH (*Curcuma zedoaria*) SEBAGAI ANTIKANKER PAYUDARA DENGAN PENDEKATAN BIOINFORMATIKA DAN ANALISIS DOCKING MOLEKULER.

Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa ekstrak rimpang kunyit putih (*Curcuma zedoaria*) memiliki aktivitas terhadap sel kanker payudara namun mekanisme kerjanya belum diketahui pasti. Penelitian ini bertujuan untuk memprediksi target molekuler dari kandungan kimia ekstrak rimpang kunyit putih dan prediksi senyawa apa saja yang mampu berinteraksi dengan target molekuler antikanker. Sebanyak sembilan belas struktur senyawa aktif dari kunyit putih yang diidentifikasi dari beberapa literatur dianalisis menggunakan BATMAN-TCM untuk memprediksi protein/gen target. TTD dan OMIM digunakan untuk mengidentifikasi *pathway* dari setiap protein/gen target. Protein target dianalisis lebih lanjut dengan *docking* molekuler menggunakan Autodock vina.

BATMAN-TCM mengidentifikasi enam belas protein/gen target yang diduga terlibat dalam mekanisme kerja masing-masing senyawa. Berdasarkan hasil docking molekuler diprediksi target molekuler potensial dari kandungan ekstrak rimpang kunyit putih adalah PTGS2, ESR1 dan HSP90 dengan senyawa yang diprediksi memiliki interaksi terbaik untuk masing-masing target yaitu, gweicurculactone, alismol, curcumenol, λ -8(17),12diene-15,16dial, neocurdione, zerumbone epoxide, procurcumenol dan zerumin A.

Kata kunci: BATMAN-TCM, kanker payudara, *Curcuma zedoaria*, mekanisme kerja, docking molekuler.

ABSTRACT

SAPUTRA, P.A., 2018, MOLECULAR TARGET SCREENING OF THE CHEMICAL CONSTITUENTS OF CURCUMA ZEDOARIA RHIZOME EXTRACT AS ANTI-BREAST CANCER USING A BIOINFORMATIC AND MOLECULAR DOCKING STUDY

Zedoary (*Curcuma zedoaria*) rhizome extract has been shown to be active against breast cancer cell line in various studies, but its pharmacological mechanism of action remains unclear. This study aimed to predict the molecular target of chemical constituents of zedoary rhizome extract and predict constituents which had good interaction with the anticancer molecular target. Nineteen active compounds of Zedoary rhizome extract which identified from various studies were analyzed using BATMAN-TCM to predict target proteins/genes. TTD and OMIM were used to identified pathways of target proteins/genes. Predicted target proteins were further analyzed with molecular docking using systemsDock followed by Autodock Vina.

BATMAN-TCM identified sixteen target proteins/genes were involved in the mechanism of action of tested structures. The primary potential target molecular targets of zedoary constituents were PTGS2, ESR1, and HSP90 with potential active constituents were Gweicurculactone, Alismol, Curcumenol, λ -8(17),12diene-15,16dial, Neocurdione, Zerumbone epoxide, Procurcumenol dan Zerumin A.

Keywords: BATMAN-TCM, Breast Cancer, *Curcuma zedoaria*, Mechanism of action, Molecular docking.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kanker merupakan kelompok penyakit yang disebabkan oleh pertumbuhan sel secara tidak normal dengan potensi dapat menyebar ke jaringan organ lain. Umumnya kanker berupa jaringan padat kecuali leukemia. Sel kanker yang menyebar ke jaringan organ lain akan mengganggu kinerja organ tersebut hingga menyebabkan kegagalan fungsi organ yang pada akhirnya menyebabkan kematian (ACS 2015).

Kematian akibat kanker merupakan salah satu penyebab kematian terbesar di dunia dengan angka kematian total sebesar 8,93 juta pada 2016 meningkat 17,8% dari 7,58 juta pada 2006 (Naghavi *et al.* 2017). Pada 2012, angka kejadian kanker di seluruh dunia adalah sebesar 14,1 juta yang diprediksi meningkat lebih dari 50% menjadi 21,7 juta pada 2030 (Bray *et al.* 2012) Sedangkan di Indonesia angka prevalensi kanker pada 2013 sebesar 1,4% atau 347.792 kasus (Kemenkes RI 2015).

Kanker payudara merupakan jenis kanker yang paling tinggi tingkat kejadiannya di dunia yaitu sebesar 1.676.600 kasus pada tahun 2012 dengan rasio mortalitas tertinggi kedua setelah kanker paru-paru. Tingkat kematian akibat kanker payudara di negara-negara berkembang merupakan yang tertinggi. Hal ini disebabkan kurangnya deteksi dini dan tidak terjangkaunya biaya pengobatan (Bray *et al.* 2012). Jumlah kasus kanker payudara sendiri diestimasi sebesar 61.682 kasus pada tahun 2013 (Kemenkes RI 2015).

Penanganan kanker payudara umumnya dilakukan dengan pembedahan, radiasi dan kemoterapi. Namun, biaya dan efek samping yang ditimbulkan sangat besar dengan angka keberhasilan yang masih terbilang kecil. Obat-obat antikanker bekerja tidak hanya menghambat proliferasi sel kanker namun juga sel-sel normal yang memiliki kecepatan pertumbuhan yang tinggi seperti folikel rambut, sumsum

tulang belakang, sel-sel epitel dan jaringan limfosit. Sehingga menyebabkan kematian sel-sel normal dan mengganggu kinerja jaringan dan organ normal (Miller *et al.* 2016). Hal tersebut mendorong dilakukannya pencarian obat antikanker baru yang lebih efektif dengan efek samping yang lebih ringan serta biaya yang lebih murah. Senyawa metabolit dari senyawa alam kini banyak dilirik untuk dikembangkan menjadi obat antikanker yang baru contohnya omacetaxin mepesussinat yang merupakan turunan ester dari homoharringtonin, suatu alkaloid cephalotaxine dari pohon Evergreen (Newman & Giddings 2014).

Rimpang kunyit putih (*Curcuma zedoaria*) diketahui mengandung senyawa-senyawa dengan aktivitas antikanker yang potensial untuk dikembangkan menjadi obat. Lakshmi *et al.* (2011) melaporkan bahwa ekstrak kunyit putih memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan tumor pada tikus uji, lebih jauh lagi menunjukkan senyawa isocurcumenol pada dosis 35,7 mg/kg mampu mengurangi masa tumor dan memperpanjang hidup tikus uji. Ekstrak rimpang kunyit putih diketahui memiliki aktivitas sitotoksik terhadap *cell line* kanker payudara (MCF-7), serviks (Ca Ski), kanker kolon (HCT-116) dengan tingkat toksisitas rendah terhadap sel normal. Senyawa di dalam rimpang kunyit putih yang diketahui memiliki aktivitas sitotoksik yang potensial terhadap sel kanker payudara MCF-7 antara lain alismol, curcumenon, curcumenol dan zerumin A dengan nilai IC_{50} masing-masing senyawa sebesar 10 μ g, 8,3 μ g, 9,3 μ g dan 22,3 μ g. Namun, mekanisme sitotoksik dan makromolekul target yang dipengaruhi senyawa tersebut belum diketahui dan masih diperlukan penelitian lebih lanjut (Hamdi *et al.* 2014; Rahman *et al.* 2013).

Pengenalan makromolekul target dan mekanisme kerja dari suatu senyawa aktif dapat mempermudah optimasi aktivitas. Jika target kerja suatu senyawa dalam memberikan efek farmakologis telah diketahui, selanjutnya dapat dilakukan optimasi aktivitas obat yang terarah berdasarkan pola interaksi obat-target (Young *et al.* 2007). Tantangan yang dihadapi untuk menentukan target tertentu dari suatu senyawa aktif adalah proses pengujiannya yang panjang dan membutuhkan biaya

yang besar karena harus menguji satu senyawa ke banyak makromolekul. Salah satu cara untuk menjawab tantangan tersebut ialah dengan metode *in silico* yaitu *docking* molekuler. *Docking* molekuler atau penambatan molekuler merupakan salah satu metode CADD (*Computer Aided Drug Design*) yang dapat digunakan untuk memberikan gambaran bagaimana molekul senyawa berinteraksi dengan protein target dengan memprediksi konformasi dan ikatan energi bebasnya (Forli *et al.* 2016). *Docking* molekuler memiliki fungsi *scoring* berdasarkan mekanika molekuler yang biasanya meliputi tolakan, ikatan hidrogen, elektrostatis, *desolvation* dan entropi torsional. Hasil *scoring* memiliki korelasi dengan afinitas ligan terhadap protein target, di mana dapat memberikan petunjuk tentang mekanisme kerja senyawa yang diuji. Metode ini memiliki keunggulan dari segi waktu yang lebih singkat dan biaya yang lebih murah dibandingkan melakukan uji secara *in vitro* (Cosconati *et al.* 2010). Dengan memanfaatkan *docking* molekuler, protein target dapat diprediksi berdasarkan skor dan model interaksi ligan-protein. Namun, proses terjadinya kanker sangat kompleks dan rumit, ada banyak makromolekul yang terlibat dalam terjadi dan berkembangnya kanker, hal ini menyulitkan saat mencari dan memilih makromolekul yang akan diuji.

Metode analisa bioinformatika dapat digunakan untuk membantu proses identifikasi target dengan *docking* molekuler. Dengan membandingkan kemiripan struktur senyawa uji terhadap kumpulan senyawa yang diketahui targetnya dalam satu atau lebih *database* maka dapat diprediksi makromolekul mana saja yang berpotensi sebagai target. Hasil dari prediksi ini selanjutnya dapat diujikan lebih lanjut dengan *docking* molekuler untuk melihat model interaksinya. BATMAN-TCM (*Bioinformatics Analysis Tool for Molecular mechANism of Traditional Chinese Medicine*), *Swiss Target Prediction*, KEGG (*Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*) merupakan beberapa alat bioinformatika yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi target dari suatu senyawa aktif (Kong *et al.* 2017).

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi target antikanker payudara dari 19 senyawa pada rimpang kunyit putih yang diketahui memiliki aktivitas

antikanker payudara secara *in vitro*, berdasarkan skor BATMAN-TCM, kemudian dipilih protein target yang terlibat pada *pathway* kanker payudara yang selanjutnya dianalisis lebih lanjut untuk menentukan *energy binding* dan pola interaksi hasil perhitungan secara *in silico* menggunakan aplikasi Autodock Vina dalam *software* PyRx.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang permasalahan yang telah dipaparkan maka diambil suatu rumusan masalah yaitu:

Pertama, protein apa saja yang menjadi target molekuler kandungan kimia rimpang kunyit putih sebagai antikanker payudara?

Kedua, apa saja kandungan kimia dari rimpang kunyit putih yang diprediksi memiliki interaksi yang baik terhadap target molekuler kanker payudara?

C. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah dipaparkan maka tujuan dari penelitian ini yaitu:

Pertama, mengetahui protein apa saja yang menjadi target molekuler kandungan kimia rimpang kunyit putih sebagai antikanker payudara.

Kedua, kandungan kimia dari rimpang kunyit putih yang diprediksi memiliki interaksi yang baik terhadap target molekuler kanker payudara.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah mendapat target molekuler kanker payudara di mana kandungan kimia rimpang kunyit putih bekerja kemudian senyawa dapat dikembangkan struktur kimianya untuk meningkatkan aktivitasnya berdasarkan pendekatan interaksi obat-target. Bagi peneliti, penelitian ini dapat menambah wawasan dan keterampilan terkait data yang didapat dan hasil dalam *docking* molekuler.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Kanker

1. Kanker

Kanker merupakan penyakit yang ditimbulkan akibat mekanisme pengaturan keberlangsungan hidup, proliferasi serta diferensiasi sel yang tidak terkontrol dengan normal. Sel kanker memiliki kemampuan untuk menyebar ke jaringan atau organ lain, bersebelahan (invasi) atau berpindah ke yang lebih jauh (metastasis) (NCI 2015).

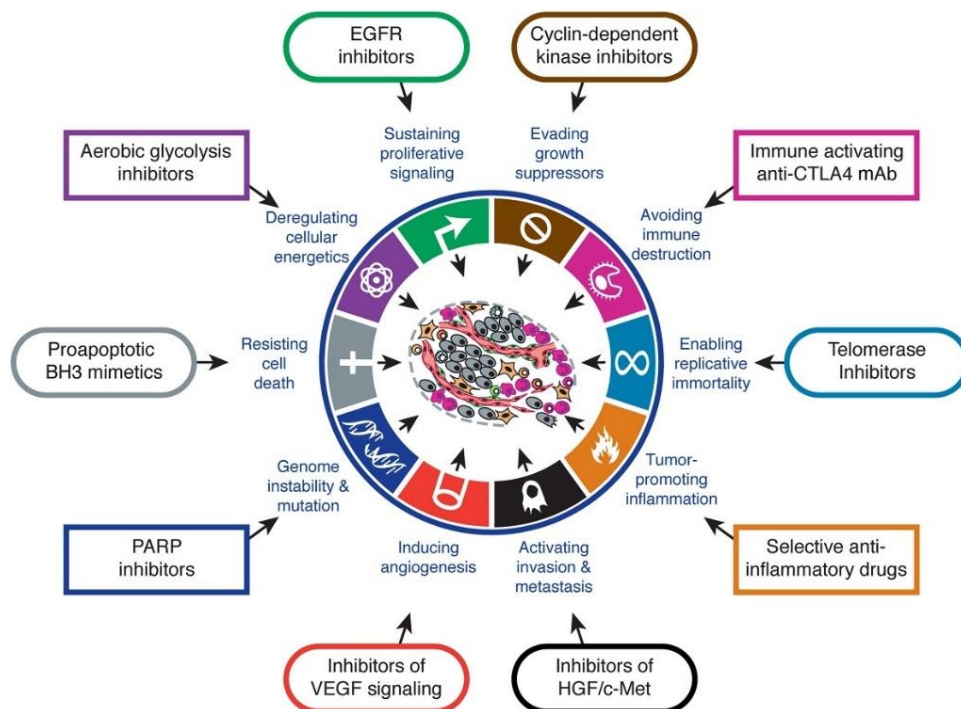
Kanker sel timbul akibat adanya kerusakan sel yang menyebabkan perubahan bagian pada genetik atau epigenetik. Kerusakan dapat dikarenakan agen karsinogen fisik, kimia atau biologis. Proses terjadinya kanker merupakan proses bertahap yang diawali dengan fase inisiasi di mana sel terpapar karsinogen sehingga terjadi perubahan susunan genetik sel. Fase selanjutnya adalah promosi, di mana terjadi perubahan lingkungan yang mendukung pertumbuhan sel “rusak” dibanding sel normal. Fase berikutnya adalah konversi atau transformasi di mana sel berubah menjadi sel kanker. Fase terakhir adalah *progression* di mana terjadi perubahan genetik lebih lanjut yang semakin meningkatkan kemampuan sel untuk berproliferasi dan kemampuan untuk menginvasi dan bermetastasis ke jaringan lainnya (Hanahan & Weinberg 2011).

2. Kanker payudara

Kanker payudara merupakan jenis kanker terjadi pada sel epitel payudara. Kanker payudara merupakan kanker yang paling banyak diderita oleh wanita. Kanker payudara ditandai dengan pertumbuhan sel-sel di payudara yang tidak terkendali yang selanjutnya berkembang dan menginvasi maupun bermetastasis ke jaringan atau organ lain. Metastasis kanker payudara biasanya terjadi ketika sel kanker berhasil masuk ke saluran getah bening pada daerah ketiak (Dai *et al.* 2016).

3. Karakter sel kanker

Hanahan dan Weinberg (2011) mengutarakan ada 10 karakter khas dari kanker secara umum yaitu (1), kemampuan mempertahankan sinyal proliferasi, (2), tidak merespons terhadap sinyal penghambat pertumbuhan, (3), menghindari serangan sistem imun, (4), memiliki kemampuan replikasi diri yang tidak terbatas, (5), Inflamasi yang memacu pertumbuhan tumor, (6), melakukan invasi dan metastasis, (7), kemampuan menginduksi angiogenesis, (8), mutasi (9), tidak merespons terhadap sinyal apoptosis dan (10), memodifikasi metabolisme sel. Setiap karakteristik dari sel kanker tersebut berpotensi untuk dijadikan target obat antikanker generasi terbaru yang lebih efektif dan aman.



Gambar 1. Sepuluh karakteristik dari sel kanker (Hanahan & Weinberg 2011)

4. Obat kanker konvensional

Obat-obat kemoterapi konvensional pada umumnya bekerja dengan mempengaruhi satu tahap pada siklus sel baik selektif maupun non selektif terhadap siklus tertentu. Berdasarkan mekanismenya obat kemoterapi dibagi menjadi lima

kelompok yaitu zat pengalkilasi, antimetabolit, antrasiklin, alkaloid bahan alam dan inhibitor topoisomerase (Neal 2016).

4.1. Zat pengalkilasi. Senyawa golongan ini memiliki mekanisme kerja dengan menambahkan gugus alkil pada basa nitrogen DNA menyebabkan perubahan pasangan basa dari guanin:sitosin menjadi timin:adenin hal ini memicu apoptosis akibat kerusakan pada DNA. Efek samping yang ditimbulkan bisa berupa kemandulan bahkan timbulnya kanker sekunder. Bersifat non-spesifik terhadap siklus sel. Contoh dari senyawa ini adalah cisplatin, carboplatin, cyclophosphamide dan oxaliplatin.

4.2. Antimetabolit. Senyawa golongan ini merupakan analog dari prekursor asam nukleat atau analog dari asam nukleat. Memiliki struktur senyawa yang mirip dengan purin yang kemudian bergabung dengan DNA atau RNA menyebabkan proses replikasi terganggu. Spesifik terhadap siklus S. Contoh thioguanine (Tabloid), cytarabine (Cytarabine), cladribine (Leustat), gemcitabine (Gemzar) and fludarabine (Fludara).

4.3. Antrasiklin. Anthracyclines diperoleh dari bakteri *Streptomyces peuceutius*. Senyawa ini memiliki 3 mekanisme kerja. Pertama, menghasilkan radikal bebas yang merusak DNA mengakibatkan apoptosis. Kedua, menempel pada basa nitrogen menyebabkan DNA atau RNA gagal di sintesis. Ketiga menghambat topoisomerase II sehingga replikasi dan transkripsi tidak terjadi yang pada akhirnya memicu apoptosis.

4.4. Alkaloid bahan alam. Sebagian besar alkaloid bahan alam memiliki mekanisme kerja dengan memblokir perubahan tubulin menjadi microtubul saat pembelahan sel, sehingga golongan ini spesifik pada siklus M. Contoh obat golongan ini adalah vinblastine (Velbe) dan vincristine (Oncovin).

4.5. Inhibitor topoisomerase. Terdapat dua tipe inhibitor topoisomerase yaitu tipe I dan tipe II. Tipe I secara efektif menghambat topoisomerase, sedangkan tipe II menghambat pada siklus sel S-G2. Contoh tipe I camptothecin (Camptothecin), irinotecan (Camptosar) dan topotecan (Topotecan) serta lamellarin

D (Lam-D). Sedangkan tipe II antara lain (Amsidine), etoposide (Eposin) dan teniposide (Vumon).

5. *Targeted drug therapy.*

Kemoterapi konvensional tidak memiliki selektivitas terhadap sel kanker sehingga menyebabkan kematian sel normal yang aktif membelah dan menimbulkan efek samping yang berat. Sehingga saat ini banyak dikembangkan obat-obat yang bekerja selektif berdasarkan reseptor tertentu baik berupa molekul kecil maupun antibodi monoklonal. Tantangan yang dihadapi untuk mengembangkan obat molekul kecil adalah biaya yang digunakan cukup besar karena harus menyintesis banyak senyawa untuk kemudian diujikan ke reseptor tertentu (Baudino 2015). Sedangkan obat berupa antibodi memiliki masalah terhadap daya penetrasi ke masa tumor karena ukuran molekulnya yang terlalu besar (Lu *et al.* 2011).

Tabel 1. Daftar obat-obat antikanker antibodi monoklonal (Baudino 2015).

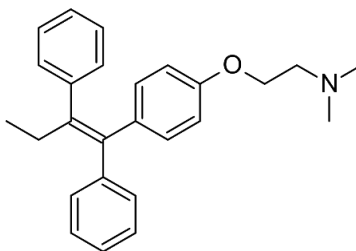
No.	Nama	Target	
1	Avastin (Bevacizumab)	VEGF	Vascular Growth Factor
2	BexxaR (Tositumomab)	CD20	Surface Antigen
3	Erbix (Cetuximab)	EGFR	Epidermal Growth Factor
4	Herceptin (Trastuzumab)	HER2	Human EGFR 2
5	Rituxan (Rituximab)	CD20	Surface Antigen
6	Vectibix (Panitumumab)	EGFR	Epidermal Growth Factor
7	Zevalin (90Y-Ibritumomab tiuxetan)	CD20	Surface Antigen
8	Mylotarg (Gemtuzumab ozogamicin)	CD33	Surface Antigen
9	Campath (Alemtuzumab)	CD52	Surface Antigen

Tabel 2. Obat molekul kecil (Lu *et al.* 2011)

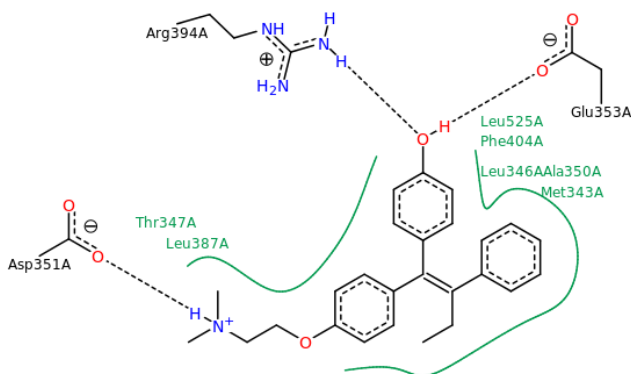
No	Nama	Target	
1	Anastrozole	Aromatase	
2	Imatinib	RTK	Enzim Tirosin Kinase
3	Gefitinib	EGFR	Epidermal Growth Factor
4	Bortezomib	Proteosome	
5	Erlotinib	EGFR	Epidermal Growth Factor
6	Sunitinib	RTK	Enzim Tirosin Kinase
7	Lapatinib	EGFR dan HER2	
8	Temsirolimus	mTOR	Mammalian Target Of Rapamycin

6. Target molekuler kanker payudara

6.1. ER (*estrogen receptor*). Reseptor estrogen merupakan salah satu reseptor steroid yang terdapat pada nukleus. ER diketahui memodulasi ekspresi gen yang berperan dalam perkembangan sel kanker melalui faktor transkripsi dan transduksi sinyal. Estrogen reseptor terdiri atas ER β dan ER α . Diketahui bahwa ER α merupakan reseptor estrogen yang paling berperan dalam perkembangan kanker. ER α berikatan dengan 17 β -estradiol (E2) selanjutnya kompleks ER α -E2 mengikat urutan DNA spesifik di daerah promotor bersama dengan protein-protein ko-aktivator dan RNA polimerase II membentuk kompleks inisiasi transkripsi (Parven *et al.* 2017). Tamoxifen merupakan obat antikanker yang secara spesifik menghambat reseptor estrogen dan digunakan secara luas untuk pasien kanker payudara ER positif. Namun, mutasi pada gen *ESR1* yang meningkatkan jumlah ER pada sel kanker menyebabkan terjadinya resistensi terhadap tamoxifen (Jeselsohn *et al.* 2015).

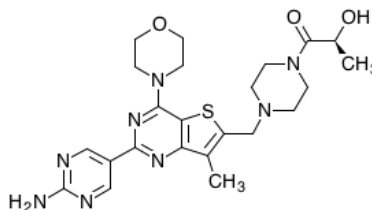


Gambar 2. Tamoxifen



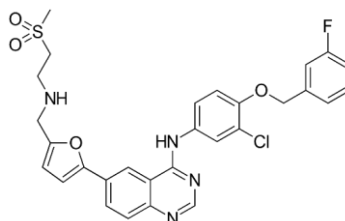
Gambar 3. Pola interaksi Tamoxifen dan ER α

6.2. mTOR (*mammalian target of rapamycin*). mTOR merupakan famili dari reseptor *phosphoinositide 3-kinase related kinase* (PIKK) berfungsi meningkatkan pertumbuhan, proliferasi sel dan menghambat autophagi dan merupakan bagian dari *phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase* (PI3K) *signaling pathway*. mTOR terfosforilasi (p-mTOR) merupakan bentuk aktif dari mTOR (Hare & Harvey 2017). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Ueng *et al.* (2012) menunjukkan adanya korelasi antara keberadaan p-mTOR dengan tingkat keparahan kondisi pasien kanker payudara.



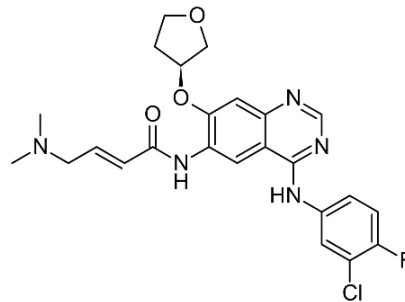
Gambar 4. Apitolisib

6.3. HER2 (*human epidermal growth factor 2*). HER2 merupakan salah satu reseptor faktor pertumbuhan. HER2 terdapat pada permukaan sel dalam bentuk monomer, ketika berikatan dengan ligan, HER 2 mengalami dimerisasi dan transfosforilasi pada domain intraseluler, memicu terjadinya berbagai *signaling pathway* antara lain *mitogen-activated protein kinase* (MAPK), *phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase* (PI3K) dan protein kinase C (PKC) yang ketiganya memicu proliferasi, *survival*, diferensiasi, angiogenesis dan invasi sel kanker. Pada pasien kanker payudara, gen HER2 mengalami *overexpression* sehingga terjadi peningkatan jumlah HER2. Sehingga HER2 saat ini dijadikan sebagai biomarker dan target terapi (Iqbal & Iqbal. 2014).

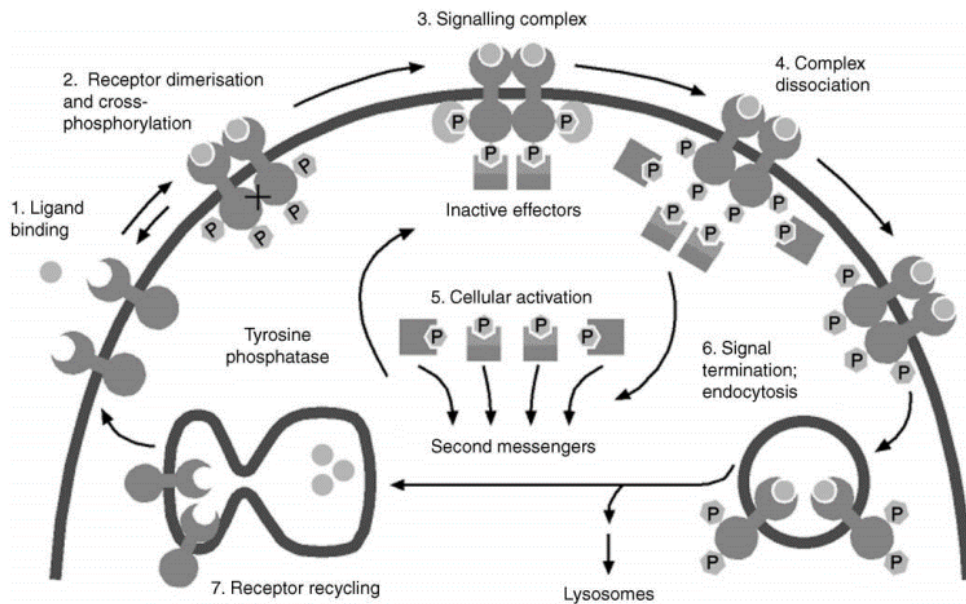


Gambar 5. Lipatinib

6.4. EGFR (*epidermal growth factor receptor*). EGFR atau HER1 merupakan reseptor pertumbuhan yang berada masih satu famili. Sama halnya dengan HER2 di mana keduanya biasa membentuk homodimer ataupun heterodimer dengan reseptor dalam famili yang sama dan mengalami fosforilasi silang saat teraktivasi yang kemudian mengaktifkan efektor *signaling pathway* yang dapat memacu progresivitas sel kanker (Yarden 2001).



Gambar 6. Afatinib



Gambar 7. Mekanisme EGFR

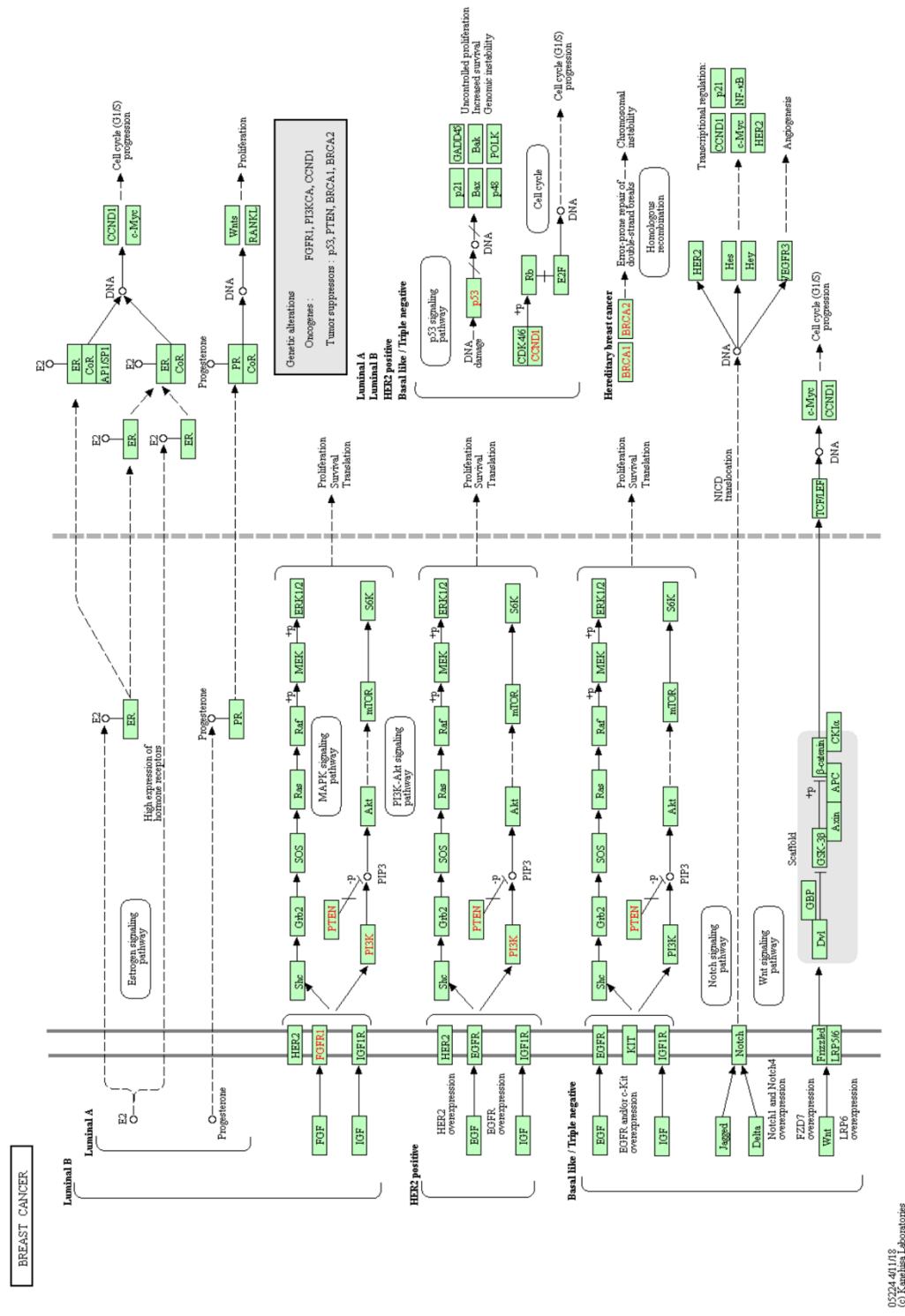
6.5. COX-2/PTGS2. COX-2 merupakan enzim yang berfungsi mengubah asam arakidonat menjadi prostaglandin yang memiliki fungsi sebagai mediator inflamasi. Seperti yang telah dipaparkan sebelumnya bahwa salah satu *hallmark of*

cancer adalah inflamasi, enzim COX-2 mengalami over ekspresi pada sel kanker dan memainkan peran dalam proliferasi sel kanker.(Williams *et al.* 1999). Enzim COX-2 juga diketahui mengalami over ekspresi pada sel kanker payudara khususnya pada kanker payudara positif HER2 (Subbaramaiah. *et al.* 2002) COX-2 diketahui meningkatkan terjadinya proses angiogenesis tumor (Davies. *et al.* 2003).

6.6. VDR. VDR merupakan reseptor inti yang meregulasi transkripsi dari hormon steroid. Ekspresi dari VDR memiliki asosiasi dengan peningkatan *survival rate* pasien kanker payudara. Kadar vitamin D yang tinggi juga berhubungan dengan kadar estrogen yang rendah dan penurunan ekspresi EGFR. Inecalcitol merupakan senyawa superagonist VDR dapat menghambat pertumbuhan *cell line* positif estrogen seperti sel MCF-7 (Murray *et al.* 2017).

6.7. HSP90A. Hsp90 merupakan protein yang berperan dalam pelipatan protein lainnya, hal ini juga termasuk protein onkogen, proses ini diregulasi dengan pengikatan dan hidrolisis ATP dan co-chaperon (HSP70, Aha1, p23, HSP-organizing protein (HOP), Cdc37). Inhibisi terhadap HSP90 menyebabkan protein gagal melipat dengan sempurna, akibatnya protein onkogen dieliminasi dengan jalur degradasi ubiquitination dan proteasome, hal tersebut mengganggu perkembangan sel kanker (Shi *et al.* 2012).

6.8. FNTA. Farnesyltransferase merupakan enzim yang berperan dalam pembentukan dan aktivasi protein Ras yang telah diketahui merupakan salah satu *pathway* kanker (Wang *et al.* 2017)).



Gambar 8. Jalur molekuler kanker payudara (KEGG 2018)

B. Kunyit Putih

1. Klasifikasi

Divisio	: Spermatophyta
Subdivisio	: Angiospermae
Kelas	: Monocotyledonae
Bangsa	: Zingiberales
Suku	: Zingiberaceae
Marga	: Curcuma
Jenis	: <i>Curcuma zedoaria</i> (Berg.) Rosc.

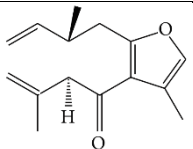
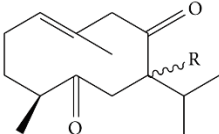
(USDA 2017)

2. Morfologi

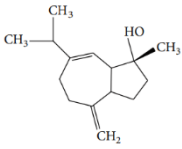
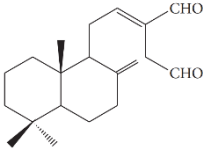
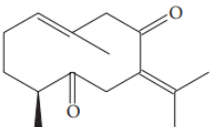
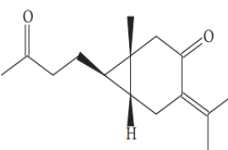
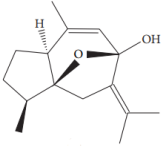
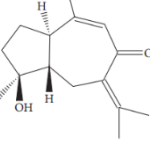
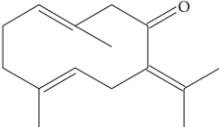
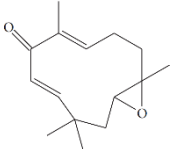
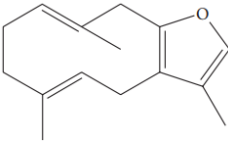
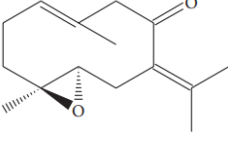
Zedoaria termasuk dalam tanaman herbaceous dan rhizomatous merupakan tanaman dari famili Zingiberaceae dengan genus *Curcuma*. Kunyit putih tersebar di berbagai wilayah tropis dan subtropis, bunga majemuk keluar dari rimpang samping, menjulang ke atas membentuk bongkol bunga yang besar tinggi hingga 30 cm. Pada bulan November hingga Desember akar penyimpanan terbentuk di mana mengandung (> 70%) karbohidrat (Maciel & Criley 2003).

C. Aktivitas Antikanker Senyawa Kimia Rimpang Kunyit Putih

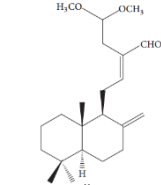
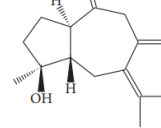
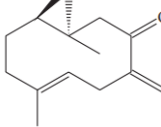
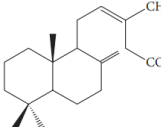
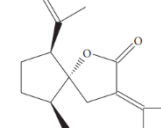
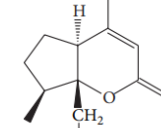
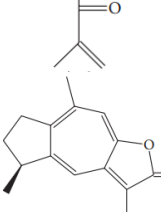
Tabel 3. Senyawa kimia dalam rimpang kunyit putih dengan aktivitas sitotoksik

No	Struktur	Nama	IC ₅₀ (µg/ml)		Ref
			MCF-7	Sel Normal	
1		Curzerenone	40,0 ± 0,5	20 ± 1,2 (1)	(Rahman <i>et al.</i> 2013)
2		Neocurdione	53,5 ± 1,1	59,0 ± 0,4 (1)	(Rahman <i>et al.</i> 2013)

Lanjutan Tabel 3. Senyawa kimia dalam rimpang kunyit putih dengan aktivitas sitotoksik

3		Alismol	$10,0 \pm 0,7$	>100 (2)	(Rahman <i>et al.</i> 2013)
4		λ -8(17),12diene-15,16dial	$16,3 \pm 0,2$	$45,3 \pm 1,9$ (2)	(Hamdi <i>et al.</i> 2014)
5		Dehydrocurdione	$33,0 \pm 1,1$	$24,0 \pm 2,1$ (2)	(Hamdi <i>et al.</i> 2014)
6		Curcumenone	$8,3 \pm 1,0$	$50,0 \pm 8,6$ (2)	(Hamdi <i>et al.</i> 2014)
7		Curcumenol	$9,3 \pm 0,3$	$25,9 \pm 1,4$ (2)	(Hamdi <i>et al.</i> 2014)
8		Procurcumenol	$16,1 \pm 2,2$	$16,3 \pm 1,0$ (2)	(Hamdi <i>et al.</i> 2014)
9		Germacrone	$59,1 \pm 2,9$	$73,7 \pm 0,3$ (2)	(Hamdi <i>et al.</i> 2014)
10		Zerumbone epoxide	$24,1 \pm 0,1$	$14,2 \pm 1,1$ (2)	(Hamdi <i>et al.</i> 2014)
11		Furanodiene	$36,5 \pm 2,6$	$40,9 \pm 2,6$ (2)	(Hamdi <i>et al.</i> 2014)
12		Germacrone-4,5-epoxide	$37,2 \pm 4$	$48,4 \pm 4,7$ (2)	(Hamdi <i>et al.</i> 2014)

Lanjutan Tabel 3. Senyawa kimia dalam rimpang kunyit putih dengan aktivitas sitotoksik

13		Calcaratarin A	62,5 ± 4,8	47,3 ± 4,2 (2)	(Hamdi <i>et al.</i> 2014)
14		Isoprocurcumenol	58,8 ± 4,2	45,1 ± 3,0 (2)	(Hamdi <i>et al.</i> 2014)
15		Germacrone-1,10-epoxide	61,2 ± 5,8	55,5 ± 1,6 (2)	(Hamdi <i>et al.</i> 2014)
16		Zerumin A	22,3 ± 1,1	25,8 ± 1,9 (2)	(Hamdi <i>et al.</i> 2014)
17		Curcumanolide A	29,8 ± 3,1	21,7 ± 7,0 (2)	(Hamdi <i>et al.</i> 2014)
18		Curcuzedoalide	49,8 ± 3,6	45,3 ± 7,8 (2)	(Hamdi <i>et al.</i> 2014)
19		Gweicurculactone	31,2 ± 3,2	71,1 ± 6,1 (2)	(Hamdi <i>et al.</i> 2014)

Sel normal: (1) MRC-5, (2) HUVEC

Rimpang kunyit putih mengandung berbagai senyawa yang memiliki aktivitas sitotoksik antara lain: λ -8(17),12diene-15,16dial, dehydrocurdione, curcumenone, comosone II, curcumenol, procurcumenol, germacrone, zerumboneepoxide, zederone, secondmonocliniccurcumenol, furanodiene, germacrone-4,5-epoxide, calcaratarin A, isoprocurcumenol, zerumin A

curcumanolide A curcuzedoalide, gweicurculactone. Cucumenone dan curcumenol diketahui memiliki aktivitas sitotoksik *in vitro* terhadap sel kanker payudara (MCF-7) dengan IC₅₀ masing-masing 8,3 µg/ml dan 9,3 µg/ml (Hamdi *et al.* 2014).

Penelitian lainnya yang dilakukan Rahman *et al.* (2013) menemukan ada dua senyawa pada kunyit putih yaitu Curzorenone dan Alismol. Curzorenone memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker serviks (Ca Ski) sebesar 8,9 µg/ml sedangkan aktivitas terhadap sel normal (MRC-5) sebesar 20 µg/ml. Alismol memiliki aktivitas terhadap sel kanker payudara (MCF-7) sebesar 10 µg/ml ; sel kanker serviks (Ca Ski) 8,7 µg/ml ; sel kanker kolon (HCT-116) 9,0 µg/ml sedangkan pada sel normal >100 µg/ml.

D. Penggunaan Komputer di Bidang Penemuan Obat

1. Computer aided drug design

Computer-aided drug design (CADD) merupakan sekumpulan teknik yang digunakan untuk merancang obat baru dengan bantuan komputer. CADD dimanfaatkan untuk memilih senyawa penuntun (*lead compound*), optimasi aktivitas dan profil ADMET dan meningkatkan keamanan obat. CADD juga dikembangkan untuk memprediksi mekanisme dan target molekuler dari suatu senyawa bahan alam yang selama ini membutuhkan upaya dan tenaga yang besar untuk dilakukan. Penggunaan CADD dalam memprediksi mekanisme suatu senyawa diharapkan dapat mempercepat pengembangan senyawa yang memiliki aktivitas tertentu menjadi suatu obat (Chen & Ren 2014).

2. Bioinformatika

Bioinformatika merupakan lintas disiplin ilmu yang mencakup ilmu genetika, ilmu komputer, dan biomolekuler (Xia. 2017). Bioinformatika diaplikasikan secara luas untuk memahami aktivitas sel hidup secara molekuler, proses terjadinya penyakit serta penemuan obat baru di mana data tersebut (Attwood *et al.* 2010). Peran bioinformatika dalam bidang penemuan obat baru mencakup

karakterisasi target, peran target dalam konteks biokimia dan seluler serta variasi-variasi dari protein target (Searls 2000).

3. BATMAN-TCM

Bioinformatics Analysis Tool for Molecular Mechanism of Traditional Chinese Medicine adalah suatu *webserver* yang digunakan untuk memprediksi target molekuler dari suatu bahan alam berkhasiat berdasarkan kemiripan struktur. Keunggulan BATMAN-TCM dalam memprediksi protein target adalah adanya kemampuan untuk memilah protein berdasarkan jenis penyakit serta integrasi dengan KEGG (*Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*) sehingga dapat memvisualisasikan hasil ke dalam skema *pathway* penyakit tertentu. Fungsi utama dari BATMAN-TCM antara lain (1), Prediksi target dari setiap bahan, (2), Analisa bioinformatika dari target potensial secara fungsi *Gene Ontology* (GO), Jalur biologis KEGG dan analisa OMIM/TTD, (3), memvisualisasi hubungan dan jalur biologis dari bahan-target-jalur/penyakit, (4), Analisis perbandingan dari setiap bahan, (5), Function2TCM: mencari herbal atau kandungan kimia yang memiliki hubungan secara signifikan dengan jalur biologis tertentu (Liu *et al.* 2016).

Metode prediksi yang digunakan BATMAN-TCM adalah dengan melihat kemiripan dengan interaksi obat-target yang telah diketahui. Kemiripan dihitung berdasarkan skor kemiripan antar struktur ligan dan skor kemiripan antar target. Metode skoring yang digunakan untuk melihat kemiripan antar ligan yaitu, berdasarkan struktur kimia (*fingerprint based* dan gugus fungsional), efek samping, klasifikasi ATC (*Anatomical, Therapeutic and Chemical*), ekspresi gen terinduksi obat dan pencarian skor dari hubungan antar senyawa kimia. Sedangkan metode skoring untuk menilai kemiripan antar protein adalah berdasarkan struktur asam amino, interaksi hubungan protein dan anotasi fungsional GO. Hasil prediksi diurutkan secara menurun berdasarkan skor, urutan tertinggi merupakan target potensial untuk senyawa yang diuji (Liu *et al.* 2016).

4. *Docking* molekuler

Docking molekuler adalah suatu metode CADD yang saat ini banyak dimanfaatkan dalam penemuan dan pengembangan obat baru. Suatu upaya untuk meningkatkan efektivitas serta menurunkan biaya dari pencarian senyawa aktif baru. Tujuan dari *docking* molekuler adalah memberikan prediksi terhadap struktur kompleks ligan-reseptor dengan metode komputasi.

Proses *docking* terdiri dari dua langkah yang saling berhubungan yaitu sampling konformasi dan mengurutkan konformasi yang diperoleh berdasarkan skornya. Algoritma *docking* berfungsi untuk mengeksplorasi konformasi ruang dan ligan atau target protein, sedangkan *scoring function* berfungsi untuk mengevaluasi konformasi dengan memperhitungkan kekuatan afinitas antara ligan dengan protein dan kemudian mengarahkan eksplorasi konformasi ligan kepada pose yang memiliki afinitas lebih kuat (Meng *et al.* 2011).

Autodock Vina merupakan *software* molekuler *docking* yang merupakan pengembangan dari Autodock. Vina memiliki kecepatan prediksi 62 kali lebih cepat dan akurasi prediksi model interaksi yang lebih baik dibandingkan Autodock dengan optimasi algoritma serta memanfaatkan fitur *multithreading* sehingga mempercepat proses kalkulasi pada komputer *multi-core* (Trot & Olson 2011).

E. Landasan Teori

Kanker merupakan penyakit yang timbul akibat mekanisme pengaturan keberlangsungan hidup, proliferasi serta diferensiasi sel yang tidak terkontrol dengan normal. Sel kanker memiliki kemampuan untuk menyebar ke jaringan atau organ lain, bersebelahan (invasi) atau berpindah ke yang lebih jauh (metastasis). Kanker payudara merupakan jenis kanker terjadi pada sel epitel payudara. Kanker payudara merupakan kanker yang paling banyak diderita oleh wanita. Kanker payudara ditandai dengan pertumbuhan sel-sel di payudara yang tidak terkendali yang selanjutnya berkembang dan menginvasi maupun bermetastasis ke jaringan atau organ lain (Hanahan & Weinberg 2011 ; Dai *et al.* 2016).

Kemoterapi konvensional tidak memiliki selektivitas terhadap sel kanker sehingga menyebabkan kematian sel normal yang aktif membelah dan menimbulkan efek samping yang berat. Sehingga saat ini banyak dikembangkan obat-obat yang bekerja selektif berdasarkan reseptor tertentu baik berupa molekul kecil maupun antibodi *monoklonal*. Tantangan yang dihadapi adalah biaya yang digunakan cukup besar karena harus menyintesis banyak senyawa untuk kemudian diujikan ke reseptor tertentu (Neal 2016).

Beberapa protein yang berpotensi menjadi target molekuler antikanker antara lain EGFR, HER2, mTOR dan ER. Estrogen reseptor terdiri atas ER β dan ER α . Diketahui bahwa ER α merupakan reseptor estrogen yang paling berperan dalam progres kanker. ER α berikatan dengan 17 β -estradiol (E2) selanjutnya kompleks ER α -E2 mengikat urutan DNA spesifik di daerah promotor bersama dengan protein-protein ko-aktivator dan RNA polimerase II membentuk kompleks inisiasi transkripsi (Parven *et al.* 2017). mTOR merupakan famili dari reseptor *phosphoinositide 3-kinase related kinase* (PIKK) berfungsi meningkatkan pertumbuhan, proliferasi sel dan menghambat autophagi dan merupakan bagian dari phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase (PI3K) *signaling pathway*. mTOR terfosforilasi (p-mTOR) merupakan bentuk aktif dari mTOR (Hare & Harvey 2017). EGFR dan HER2 merupakan salah reseptor faktor pertumbuhan. Terdapat pada permukaan sel dalam bentuk monomer, ketika berikatan dengan ligan, reseptor mengalami dimerisasi dan transfosforilasi pada domain intraseluler, memicu terjadinya berbagai *signaling pathway* antara lain *mitogen-activated protein kinase* (MAPK), phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase (PI3K) dan *protein kinase C* (PKC) yang ketiganya memicu proliferasi, *survival*, diferensiasi, angiogenesis dan invasi sel kanker (Iqbal & Iqbal 2014 ; Yarden 2001).

Rimpang kunyit putih diketahui memiliki senyawa dengan aktivitas sitotoksik yang menjanjikan. Cucumenon dan curcumenol diketahui memiliki aktivitas sitotoksik *in vitro* terhadap sel kanker payudara (MCF-7) dengan konsentrasi masing-masing 8,3 $\mu\text{g/ml}$ dan 9,3 $\mu\text{g/ml}$ (Hamdi *et al.* 2014). Penelitian

yang dilakukan Rahman *et al.* (2013) menemukan ada dua senyawa pada kunyit putih yaitu Curzorenone dan Alismol. Curzorenone memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker serviks (Ca Ski) sebesar 8,9 $\mu\text{g/ml}$ sedang kan aktivitas terhadap sel normal (MRC-5) sebesar 20 $\mu\text{g/ml}$. Alismol memiliki aktivitas terhadap sel kanker payudara (MCF-7) sebesar 10 $\mu\text{g/ml}$; sel kanker serviks (Ca Ski) 8,7 $\mu\text{g/ml}$; sel kanker kolon (HCT-116) 9,0 $\mu\text{g/ml}$ sedangkan pada sel normal >100 $\mu\text{g/ml}$. Namun, mekanisme maupun target molekuler dari senyawa-senyawa tersebut belum diketahui dengan pasti.

Computer-aided drug design (CADD) merupakan sekumpulan teknik yang digunakan untuk merancang obat baru dengan bantuan komputer. CADD juga dikembangkan untuk memprediksi mekanisme dan target molekuler dari suatu senyawa bahan alam yang selama ini membutuhkan upaya dan tenaga yang besar untuk dilakukan (Meng *et al.* 2011).

BATMAN-TCM merupakan suatu *webserver* yang digunakan untuk memprediksi target molekuler dari suatu bahan alam berkhasiat berdasarkan kemiripan struktur. Keunggulan BATMAN-TCM dalam memprediksi protein target adalah adanya kemampuan untuk memilah protein berdasarkan jenis penyakit serta integrasi dengan KEGG (*Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*) sehingga dapat memvisualisasikan hasil ke dalam skema *pathway* penyakit tertentu (Liu *et al.* 2016).

Docking molekuler adalah suatu metode CADD yang saat ini banyak dimanfaatkan dalam penemuan dan pengembangan obat baru. Suatu upaya untuk meningkatkan efektivitas serta menurunkan biaya dari pencarian senyawa aktif baru. Tujuan dari *docking* molekuler adalah memberikan prediksi terhadap struktur kompleks ligan-reseptor dengan metode komputasi.

F. Hipotesis

1. Target molekuler kanker yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antikanker senyawa-senyawa yang terdapat pada rimpang kunyit putih dapat diprediksi dengan metode bioinformatika dan *docking* molekuler.
2. Senyawa-senyawa tertentu yang terdapat pada rimpang kunyit putih diprediksi memiliki interaksi yang baik dengan target molekuler kanker.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian adalah kandungan kimia dalam rimpang kunyit putih.

Sampel dalam penelitian adalah sembilan belas kandungan kimia dari rimpang kunyit putih yang berpotensi sebagai antikanker payudara.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah kandungan senyawa kunyit putih memiliki aktivitas antikanker payudara. Variabel utama kedua adalah makromolekul target Variabel utama ketiga pada penelitian ini adalah perangkat lunak yang digunakan untuk prediksi makromolekul target, perangkat lunak untuk *docking*, metode preparasi protein dan ligan, serta analisis hasil kualitatif dan kuantitatif *docking* molekuler.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah variabel yang diteliti pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas yang digunakan pada penelitian ini adalah struktur sembilan belas kandungan kimia rimpang kunyit putih yang memiliki aktivitas antikanker payudara dan makromolekul target.

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah titik pusat persoalan yang merupakan kriteria peneliti. Variabel tergantung yang digunakan dalam penelitian ini adalah makromolekul target dan potensi interaksi.

Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah variabel yang dianggap berpengaruh terhadap variabel tergantung selain variabel bebas, sehingga perlu ditetapkan kualitasnya agar hasil yang diperoleh dapat diulang dalam penelitian lain

secara tepat. Variabel terkendali yang digunakan pada penelitian ini adalah metode kristalografi serta resolusi makromolekul dan ligan asli.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, kandungan kimia rimpang kunyit putih adalah sembilan belas struktur kimia dari metabolit sekunder yang terdapat dalam rimpang kunyit putih selanjutnya disebut sebagai ligan uji.

Kedua, potensi interaksi dengan target molekuler adalah protein yang diprediksikan menjadi target molekuler berdasarkan metode BATMAN TCM.

Ketiga, nilai energi ikatan adalah skoring dari konformasi pada program Autodock Vina.

Keempat, RMSD adalah nilai yang digunakan untuk mengevaluasi konformasi ligan asli dan ligan *redocking*

Kelima, *origin* makromolekul adalah asal spesies di mana makromolekul tersebut diperoleh, preferensinya berasal dari manusia (*Homo sapiens*).

Keenam, resolusi adalah nilai yang menyatakan resolusi dari kristalografi makromolekul (dalam satuan Å).

Ketujuh ligan asli adalah molekul kecil yang telah terkompleks dengan protein hasil kristalografi. Protein yang diinginkan adalah yang telah terkompleks dengan ligan asli dengan fungsi yang sama dengan senyawa uji.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

1.1. Perangkat Keras. Perangkat keras yang digunakan adalah *notebook* Dell inspiron 3162 dengan spesifikasi Processor Intel(R) Celeron(R) CPU N3050 @1.60 GHz, RAM 8 Giga Byte (7.9 *Giga Byte* tersedia), Hardisk 500 *Giga Byte*, Kartu Grafis Intel ® HD Graphic Family 128 Mega Byte.

1.2. Perangkat Lunak. Perangkat lunak yang digunakan adalah BATMAN-TCM (*Bioinformatics Analysis Tool for Molecular mechANism of Traditional Chinese Medicine*), Marvin Sketch (ChemAxon), SystemDock, PyRx

0.8 (Sargis Dallakyan, The Scripps Research Institute, Amerika), AutoDock Vina (The Scripps Research Institute, Amerika), Discovery Studio Visualizer v16.1.0.15350 (Dassault Systems Biovia Corp 2015), PyMOL Educational (Schrodinger) dan ProDRG

2. Bahan

2.1. Struktur tiga dimensi ligan. Struktur dua dimensi ligan digambar menggunakan program Marvin Sketch dan diperoleh dengan SMILES dari website PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dan disimpan dalam format .mol. Senyawa yang akan dilakukan prediksi target molekuler adalah 19 senyawa yang telah ditampilkan pada tabel 3.

D. Cara Kerja

1. Prediksi target molekuler menggunakan BATMAN TCM

Struktur dua dimensi yang sudah digambar menggunakan Marvin Sketch dikonversi menjadi InChI menggunakan program OpenBabel.

InChI yang telah diperoleh selanjutnya dimasukkan ke kolom *query input* pada website BATMAN-TCM (<http://bionet.ncpsb.org/batman-tcm/index.php/Home/Index/index>) maksimal 4 *query* setiap proses prediksi. *Score cutoff* yang digunakan adalah 20 dan P-value *cutoff* adalah 0,05.

2. Analisis hasil BATMAN-TCM

2.1. Validasi. Validasi metode analisis dengan BATMAN-TCM dilakukan dengan memasukkan InChI Key Afimoxifene (4-Hydroxytamoxifen) yang merupakan bentuk aktif dari Tamoksifen ke BATMAN-TCM. Dinyatakan valid jika skor *docking* yang dihasilkan terhadap reseptor estrogen >90.

2.2. Pemilihan target. Target dipilih berdasarkan kategori penyakit pada hasil BATMAN-TCM, hanya protein yang berperan pada penyakit kanker payudara. Selanjutnya dilakukan screening awal terhadap struktur 3D tiap target menggunakan SystemDock

3. Cara kerja *docking* molekuler

3.1. Pengunduhan makromolekul. Setiap protein yang berperan pada kanker payudara yang berhasil diidentifikasi dengan BATMAN-TCM dan telah diskriming dengan SystemDock diunduh strukturnya dari Protein Data Bank (RCSB PDB) dengan kriteria yang telah dipaparkan pada bagian definisi variabel.

3.2. Pembuatan struktur tiga dimensi ligan uji. Struktur dua dimensi dari sembilan belas senyawa yang telah dibuat dengan MarvinSketch dalam format .mol dibuat struktur tiga dimensinya menggunakan ProDRG dan disimpan dengan format PDB.

3.3. Preparasi makromolekul. Preparasi makromolekul akan dilakukan menggunakan Autodock tools. Langkah yang dilakukan antara lain penghilangan rantai yang tidak diperlukan, penghilangan air, penambahan hidrogen dan penambahan muatan *Kollman*.

3.4. Preparasi ligan. Struktur tiga dimensi dikirim ke server ProdrG secara satu persatu dalam format .mol selanjutnya dipilih hasil preparasi dengan format .pdb.

3.5. Proses *docking* molekuler. Proses *docking* molekuler menggunakan PyRx 0.8 yang menggunakan sistem Autodock Vina. Struktur makromolekul dan ligan yang telah dioptimasi secara terpisah disimpan dalam satu folder yang sama. Untuk *Docking* molekuler menggunakan Pyrx 0.8 terlebih dahulu dengan tahapan sebagai berikut: Dibuka Aplikasi PyRx 0.8 kemudian *Load Molecule* pada Folder tempat menyimpan. Setelah file semua tersedia kemudian diklik kanan pilih AutoDock pilih *Ligand* (untuk ligan yang akan diuji) dan *Macromolecule* untuk protein yang diuji. Di bagian *Vina Wizard* klik *start here* kemudian pilih *Local* (apabila belum ditandai) kemudian *Start* Pada tampilan *Select Molecules*, dipastikan ligan dan *macromolecule selected*. Apabila belum dipilih bagian *add ligan* atau *add molecule* dapat dipilih atau pada bagian AutoDock dapat diblok bagian ligan yang ingin diuji ataupun bagian makromolekul kemudian klik *forward*.

Di bagian selanjutnya terdapat *gridbox* yang dapat diatur pada *table view*, diarahkan pada *binding site* sebagai titik tengah, kemudian dicatat koordinat x,y dan z. Kemudian diklik Run Vina, maka proses *docking* akan dimulai dan tunggu hingga 100% maka hasil akan muncul pada *table analyze result*. Diklik *ligand out* dengan *binding affinity* terkecil kemudian pada table navigator akan klik *molecule* pilih ligand out yang telah diklik di *tabel analyze result*, kemudian diklik kanan *save as PDB*.

E. Analisis Hasil *Docking* Molekuler

1. Validasi

Validasi metode *docking* terhadap ligan asil dilakukan untuk mencari konformasi ligan asli. Konformasi hasil *docking* yang diperoleh selanjutnya disejajarkan dengan konformasi ligan asli pada struktur hasil kristalografi yang dinyatakan dalam nilai *root mean square deviation* (RMSD).

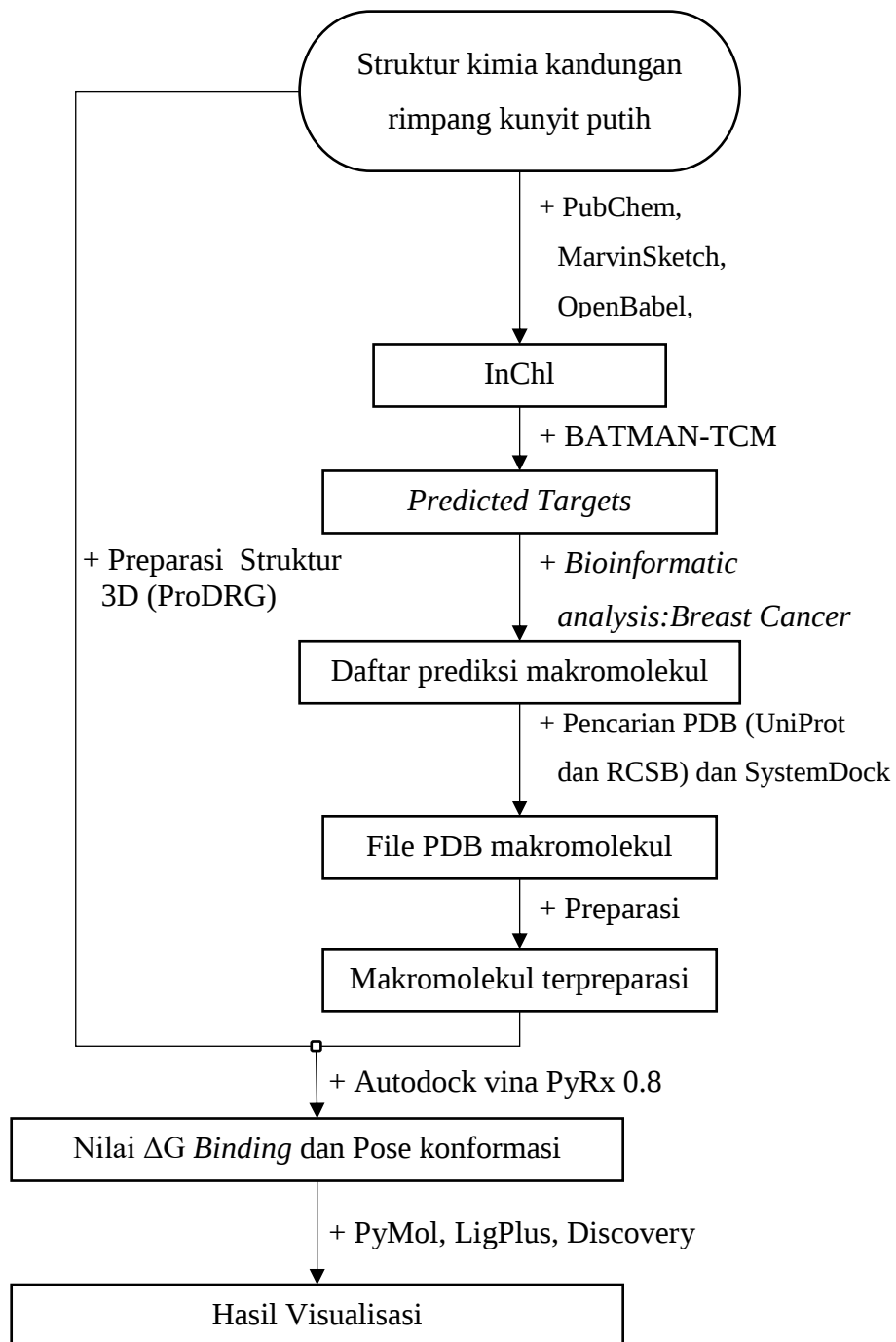
2. Energi ikatan

Hasil nilai energi ikatan yang diperoleh dilakukan tabulasi dan dibandingkan untuk setiap protein terhadap senyawa.

3. Data interaksi

Data pdb hasil *docking* dan makromolekul digabung dengan PyMOL dengan cara: dibuka PyMOL lalu diklik *file – open* kemudian dipilih file pdb hasil *docking* dan makromolekul target. Selanjutnya diklik *file – save molecule*. Kemudian, dipilih *save to one file* dan dipilih *saved state: global*. Data kompleks ligan-protein selanjutnya akan ditampilkan menggunakan PyMOL, Discovery Studio Visualizer dan LigPlus untuk melihat interaksi yang terjadi antara senyawa dan residu asam-amino protein target.

Skema Jalannya Penelitian



Gambar 9. Skema jalannya penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Prediksi Target Molekuler Menggunakan BATMAN TCM

1. Validasi BATMAN-TCM

Validasi hasil prediksi BATMAN-TCM dilakukan dengan pendekatan seperti pada metode *docking* molekuler, yaitu dengan memasukkan struktur obat yang telah diketahui pasti target molekulernya ke BATMAN -TCM. Pada penelitian ini struktur obat yang digunakan pada proses validasi BATMAN-TCM adalah afimoxifene (4-Hydroxytamoxifen) yang merupakan metabolit aktif dari tamoxifen.

Hasil prediksi target molekuler kanker payudara menggunakan BATMAN-TCM dengan *database* TTD untuk menunjukkan afimoxifene aktif terhadap ESR1 dan ESR2 sedangkan jika menurut OMIM hanya ESR1 (Lampiran 1). Hal ini sesuai dengan teori yang telah dikemukakan bahwa tamoxifen dengan metabolit aktifnya merupakan obat antikanker payudara yang selektif menghambat reseptor estrogen khususnya estrogen alfa.

2. Hasil prediksi target molekuler

Sebagian besar kandungan senyawa kunyit putih diprediksi aktif terhadap protein target antikanker oleh BATMAN-TCM seperti yang terlihat pada tabel 4. Namun, sebanyak tujuh senyawa tidak memiliki skor prediksi melebihi skor *cutoff*, sehingga tidak ada hasil prediksi target yang ditampilkan oleh BATMAN-TCM. Ketujuh senyawa tersebut adalah curzerenone, germacrone-4,5-epoxide, isoprocucumenol, germacrone-1,10-epoxide, zerumin A, gweicurculactone dan furanodione. Hasil prediksi untuk senyawa curcumenone, germacrone dan furanodione sama dengan yang telah dilaporkan oleh Kong *et al.* (2017).

Tabel 4. Hasil prediksi target molekuler menggunakan BATMAN-TCM

Senyawa	Database	
	TTD	OMIM
Neocurdione	CYP19A1, ESR1, ESR2, HSPA90A1, PGR, SRC, VDR	ATM, ESR1, PHB, PIK3CA, TP53
Alismol	ERS1, ESR2, PGR, SRC, VDR	ESR1, PHB
λ -8(17),12diene-15,16dial	CYP19A1, FNTA, NRG1, PGR	-
Dehydrocurdione	CYP19A1, ESR1, ESR2, HSPA90A1, PGR, SRC, VDR	ATM, ESR1, PHB, PIK3CA, TP53
Curcumenone	CYP19A1, ESR1, ESR2, HSPA90A1, PGR, SRC, VDR	ATM, ESR1, PHB, PIK3CA, TP53
Curcumenol	ERS1, PGR, PTGS2, TSPO	ESR1
Procurcumenol	ERS1, PGR, PTGS2, TSPO	ESR1
Germacrone	CYP19A1, ESR1, ESR2, HSPA90A1, PGR, SRC, VDR	ATM, ESR1, PHB, PIK3CA, TP53
Zerumbone epoxide	CYP19A1	-
Calcaratarin A	ESR1, PGR, T2PO	ESR1
Curcumanolide A	MAP2K1, PGR	-
Curcuzedoalide	ERS1, CYP19A1, PGR, SRC, TSPO, VDR	ESR1, PHB

Keluaran dari hasil prediksi BATMAN-TCM berupa kode gen dari setiap protein. Hasil prediksi selanjutnya dianalisis lebih lanjut menggunakan *database* OMIM dan TTD. Secara umum *database* OMIM menghasilkan data prediksi yang lebih sedikit dibandingkan TTD. Sebagai contoh, Calcarantin diprediksi aktif terhadap 3 reseptor oleh TTD sedangkan OMIM hanya memprediksi satu target potensial saja, tidak hanya itu, beberapa senyawa TTD dan OMIM memberikan hasil prediksi protein target yang berbeda. Penyebab perbedaan antara TTD dan OMIM dapat disebabkan oleh perbedaan algoritma pencarian dari masing-masing *database*. Namun hasil yang berbeda ini dianggap saling melengkapi, maka peneliti mengkompilasi hasil prediksi dari dua *database* tersebut, sehingga diperoleh sebanyak enam belas protein target yang diprediksi menjadi target dari senyawa antikanker dari kunyit putih. Penelitian yang dilakukan oleh Kong *et al.* (2017) juga

mengkompilasi hasil prediksi untuk curcumenone, furanodiene dan germacrone dengan jumlah protein target yang diprediksi sebanyak sebelas protein target.

Tabel 5. Hasil prediksi BATMAN-TCM secara keseluruhan

<i>Database</i>	<i>Diseases</i>	<i>Genes</i>
OMIM	<i>Breast Cancer</i>	ATM, ESR1, PHB, PIK3CA, TP53
TTD	<i>Breast Cancer</i>	CYP19A1, ESR1, ESR2, HSPA90A, PGR, SRC, VDR, FNTA, NRG1, PTGS2, TSPO, MAP2K1
OMIM dan TTD	<i>Breast Cancer</i>	ATM, PHB, PIK3CA, TP53, CYP19A1, ESR1, ESR2, HSPA90A, PGR, SRC, VDR, FNTA, NRG1, PTGS2, TSPO, MAP2K1

Keenam belas protein target antara lain hasil prediksi BATMAN-TCM antara lain: ATM (*ataxia-telangiectasia mutated*). PHB (*Prohibitin*), PIK3CA (*phosphatidylinositol 3-kinase*), TP53 (*targeted mutant P53*), CYP19A1 (*Aromatase*), ESR1 (*Estrogen receptor-1*), ESR2 (*Estrogen receptor-2*), HSPA90A (*Heat Shock Protein*), PGR (*progesterone receptor gene*), SRC (*Src Kinase*), VDR (*Vitamin D Receptor*), FNTA (*Farnesyltransferase*), NRG1 (*Neuregulin-1*), PTGS2 (*prostaglandin-endoperoxide synthase 2*), TSPO (*Translocator protein*) dan MAP2K1 (*mitogen-activated protein kinase*)

B. Preparasi Struktur Tiga Dimensi Makromolekul

Struktur tiga dimensi dari setiap protein target dicari menggunakan UniProt. Namun dari enam belas hanya ada sepuluh protein target (PTGS2, ESR2, FNTA, VDR, ESR1, HSP90, MEK1, SRC, PRG, PIK3) yang memenuhi kriteria antara lain memiliki struktur tiga dimensi hasil *x-ray* kristalografi dan terkompleks dengan ligan asli yang memiliki aktivitas yang diperkirakan sama dengan ligan uji.

Pemilihan struktur tiga dimensi dari setiap struktur dilakukan dengan bantuan *webserver* SystemDock mengevaluasi struktur tiga dimensi dari setiap protein. Pemilihan struktur tiga dimensi berdasarkan jumlah ligan uji yang dapat berinteraksi pada hasil SystemDock. Struktur tiga dimensi terpilih ditampilkan pada tabel 6.

Selanjutnya struktur protein target diunduh dari RCSB dan dilakukan preparasi menggunakan AutoDock Tools. Preparasi dilakukan dengan menghilangkan senyawa-senyawa non residu asam amino, penghilangan molekul air dan penambahan muatan, kemudian disimpan dalam format .pdbqt. Senyawa-senyawa non-residu dapat mengganggu dan menghalangi terjadinya ikatan antara ligan asil dengan residu pada sisi aktif protein. Sedangkan molekul air dapat membuat kalkulasi *docking* menjadi semakin rumit dan memperlama proses. Sehingga walaupun dapat meningkatkan hasil *docking* menjadi lebih baik dengan memediasi terjadinya interaksi antara ligan dan reseptor, molekul air tetap dihilangkan karena keterbatasan kemampuan kalkulasi *software* dan *hardware*.

Pada protein 1S63 merupakan metalloprotein yang interaksi ligan dengan residu asam amino pada sisi aktif dimediasi oleh ion logam Zn^{2+} , sehingga pada protein 1S63 ion logam Zn^{2+} tidak dihilangkan dari struktur protein.

Tabel 6. Struktur terpilih

	Code	Tipe	Kode PDB	Ligand
Prostaglandin synthase 2	PTGS2	Enzyme	1PXX	Diclofenac (inhibitor)
Estrogen receptor beta	ESR2	Nuclear receptor	1QKN	Raloxifene (Inhibitor)
Farnesyltransferase	FNTA	Enzyme	1S63	L-778,123 (Inhibitor)
Vitamin D receptor	VDR	Nuclear receptor	1TXI	TX527 (Agonist)
Estrogen receptor alpha	ESR1	Nuclear receptor	3ERT	4-Hydroxytamoxifen (inhibitor)
Heat shock protein alpha	HSP90	Enzyme	3QDD	BIIB021 (Inhibitor)
Mitogen-activated protein kinase 1	MAPK1	Enzyme	4ANB	XI518 (Inhibitor)
Proto-oncogene tyrosine-protein kinase	SRC	Enzyme	4MXX	Bosutinib (Inhibitor)
Progesterone receptor	PGR	Nuclear Receptor	4OAR	ulipristal acetate (Inhibitor)
Phosphoinositide-3-kinase	PIK3	Enzyme	5ITD	4-aryl quinazolines (Inhibitor)

C. Preparasi Ligan Uji

Struktur ligan uji digambar menggunakan MarvinSketch berdasarkan *isomeric SMILES* dari setiap senyawa yang diperoleh dari PubChem, hal ini dilakukan untuk menghindari terjadinya kesalahan saat penggambaran, kecuali

untuk senyawa curcuzedoalide yang digambar secara manual karena belum terindeks oleh PubChem. Pemberian muatan, minimisasi energi dan pencarian konformasi struktur tiga dimensi ligan dilakukan menggunakan *webserver* PRODRG dengan menggunakan *Full charges*. Selanjutnya dipersiapkan kembali menggunakan AutoDock Tools dan disimpan dalam format .pdbqt. Konversi menjadi file input melibatkan penambahan muatan *gasteiger* dan pengaturan torsi aktif. Jumlah torsi aktif maksimal rata-rata dari setiap senyawa adalah 2.

D. Validasi Metode Docking

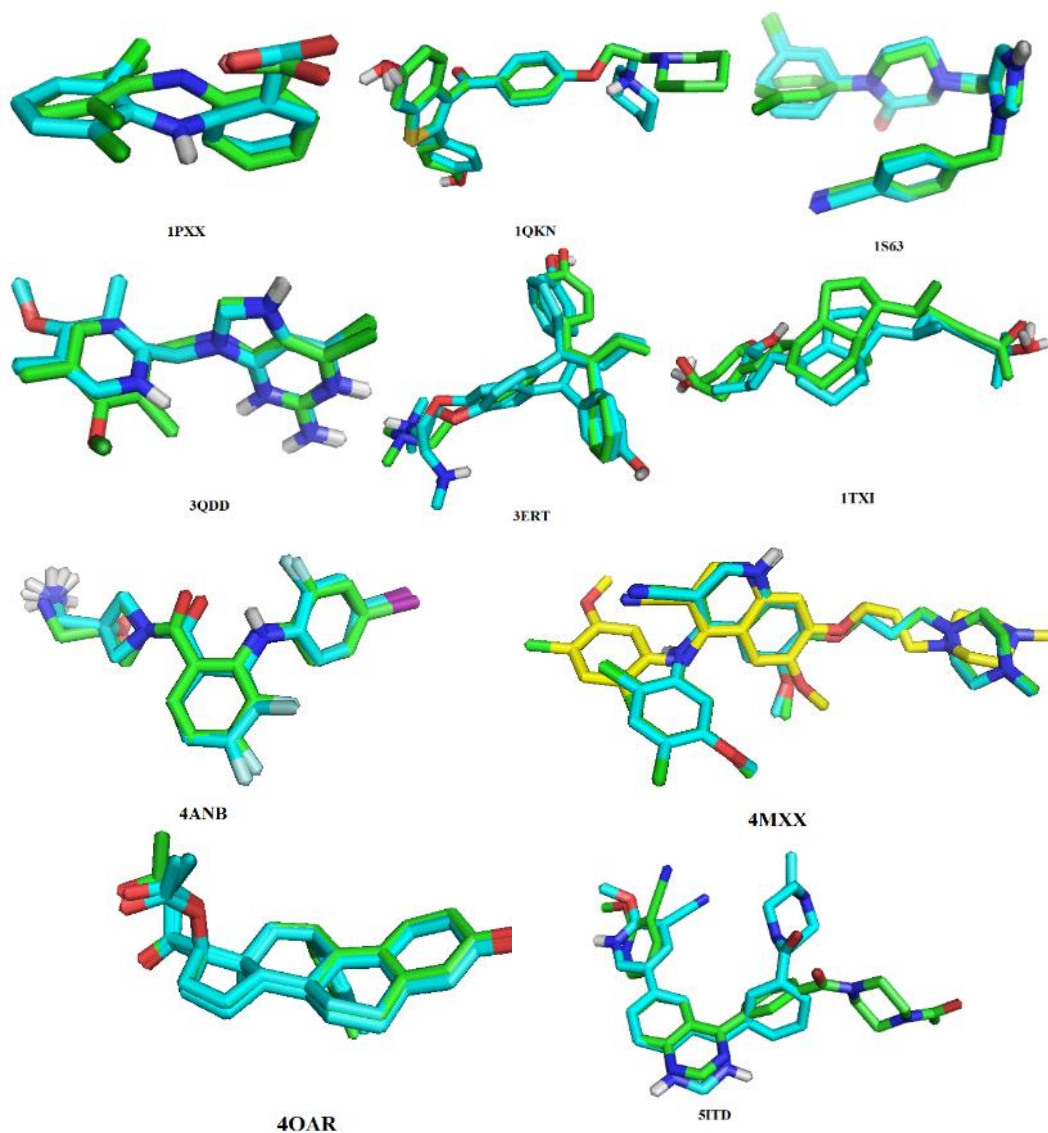
Validasi *docking* dilakukan pada setiap protein target yang akan digunakan pada studi *docking*. Prinsip umum validasi *docking* adalah dengan mendockingkan ulang ligan asli ke protein targetnya di mana ligan dan protein dipreparasi dengan cara dan parameter *docking* yang akan digunakan untuk studi *docking* ligan uji. Sebelum validasi terlebih dahulu dilakukan penentuan pusat dari *gridbox* berdasarkan pusat dari koordinat ligan asli serta penentuan ukuran *gridbox* yang didasarkan pada ukuran *binding site* dan ukuran dari ligan uji. Pusat dari *gridbox* dan dimensinya tercantum pada tabel 7.

Tabel 7. Grid center dan dimensi *gridbox*

Makromolekul	Gridbox					
	Center			Dimensi (Å)		
	X	Y	Z	X	Y	Z
1PXX	27,0357	24,5272	14,7608	20	20	20
1QKN	20,4243	29,9958	8,6362	20	20	20
1S63	17,4875	133,8690	-1,2543	20	20	20
1TXI	10,4811	22,0309	34,3369	20	20	20
3ERT	30,3397	-2,2679	24,3139	20	20	20
3QDD	-2,4908	32,9833	25,5334	20	20	20
4ANB	27,9672	-22,3850	3,4191	20	20	20
4MXX	12,5277	-37,1379	-6,7929	20	20	20
4OAR	14,4725	24,4993	14,9741	20	20	20

5ITD	0,8225	113,9687	18,5711	20	20	20
------	--------	----------	---------	----	----	----

Parameter pada validasi adalah nilai RMSD <2 dan kesamaan interaksi ligan *redocked* dan ligan asli kristalografi terhadap residu asam amino pada sisi aktif protein target.



Gambar 10. Hasil *overlay* ligan *redocked* dan ligan kristalografi (hijau) kristalografi (biru) *redocking*

Pada penelitian ini pose dan nilai RMSD hasil *redocking* ligan asli yang ditampilkan pada tabel 8 dan gambar 10 adalah hasil dari *redocking* ligan asli yang dilakukan bersamaan dengan kesembilan belas struktur uji dan direplikasi sebanyak tiga kali, hal ini dilakukan untuk melihat reliabilitas dari PyRx dan reproduisibilitas dari Autodock Vina.

Kesepuluh ligan asli berhasil di-*docking*-kan ulang ke masing-masing protein target dan menempati sisi aktif yang sama dengan struktur ligan kristalografi. Seperti yang terlihat pada gambar 10, hasil *overlay* kesepuluh ligan asli *redocked* terhadap struktur kristalografinya menunjukkan konformasi yang mendekati konformasi dari struktur kristalografi, hal ini diperkuat dengan nilai RMSD <2 (tabel 8).

Tabel 8. RMSD ligan asli *redocked*

Makromolekul	Mean RMSD (Å)	SD
1PXX	0,849	0,003
1QKN	0,187	0,003
1S63	0,255	0,036
1TXI	0,654	0,018
3ERT	1,518	0,235
3QDD	0,284	0,008
4ANB	0,370	0,003
4MXX	1,207	0,145
4OAR	0,056	0,047
5ITD	1,483	0,003

Selain itu validasi juga dilakukan pada kontrol negatif yaitu kafein. Hal ini dilakukan untuk mengetahui validitas metode *docking*, di mana nilai $\Delta G_{binding}$ dari kontrol negatif seharusnya memberikan angka yang besar. Hasil menunjukkan bahwa nilai $\Delta G_{binding}$ kafein terhadap semua makromolekul ≤ -7 (lampiran 3). Hal ini menunjukkan bahwa kafein tidak memiliki interaksi yang berarti terhadap semua makromolekul. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Rosendahl *et al.* (2015) menunjukkan kafein memiliki aktivitas sitotoksik yang

sangat lemah terhadap *cell line* MCF-7 dengan nilai IC_{50} sebesar 5 mM atau 970 $\mu\text{g/ml}$ (MR kafein=194) dengan demikian metode *docking* dapat dikatakan valid.

E. Analisa dan Visualisasi Hasil *Docking*

Sembilan belas ligan di-*docking*-kan ke sepuluh target potensial untuk mempelajari interaksinya dengan masing-masing target potensial. Proses *docking* molekuler memberikan hasil berupa nilai $\Delta G_{\text{binding}}$ dan pose ligan. Selanjutnya nilai $\Delta G_{\text{binding}}$ yang telah diperoleh dan interaksi dari masing-masing ligan asli tiap makromolekul (lampiran 4).

Berdasarkan hasil *docking* molekuler diperoleh tiga protein target yang memiliki nilai $\Delta G_{\text{binding}}$ terbaik terhadap senyawa dari kunyit putih yaitu PTGS2, ESR1 dan HSP90A. Ketiga makromolekul setidaknya memiliki satu senyawa dengan nilai $\Delta G_{\text{binding}}$ yang lebih kecil jika dibandingkan dengan ligan asli dari setiap protein target dan tiga senyawa dengan nilai $\Delta G_{\text{binding}} \geq 8$.

1. Prostaglandin synthase 2 (1PXX)

PTGS2 atau COX-2 diketahui berperan dalam penghindaran sel tumor terhadap respons imun dengan menekan sinyal *pathway* sel dendrit, *natural killer* dan sel T. Inhibitor COX dapat menghambat penghindaran sel tumor terhadap sistem imun (Bing *et al.* 2015). Selain penghindaran dari sistem imun COX-2 juga berperan dalam proliferasi sel kanker di mana Prostaglandin E2 yang merupakan produk dari COX-2 mengikat reseptor membran EP yang mengaktifasi protein kinase PI3K dan GSK3 yang mengaktifasi *pathway* β -catenin yang meregulasi proliferasi sel (Sobolewski *et al.* 2010).

Inhibitor COX-2 dilaporkan memiliki aktivitas terhadap sel kanker dan saat ini banyak diteliti untuk dikembangkan menjadi obat kanker (Pantziarka *et al.* 2016). Diklofenak diketahui memiliki aktivitas terhadap sel kanker fibroblas, payudara dan rhabdomyosarcoma (Al-Namer *et al.* 2015). Inhibitor selektif COX-2 juga memiliki aktivitas antikanker sebagaimana yang dilaporkan oleh Huang *et al.* (2017), celecoxib menunjukkan aktivitas sitotoksik pada sel MCF-7 dengan IC_{50}

sebesar 40,2 μ M. Selain itu, penelitian klinis yang dilakukan oleh Chow *et al.* (2008) membuktikan bahwa penggunaan celecoxib sebagai adjuvan efektif mengecilkan ukuran tumor preoperasi berhasil meningkatkan efektivitas terapi.

Hasil studi *docking* molekuler terhadap enzim PTGS2/COX2 dengan Autodock Vina dapat diamati pada tabel 9.

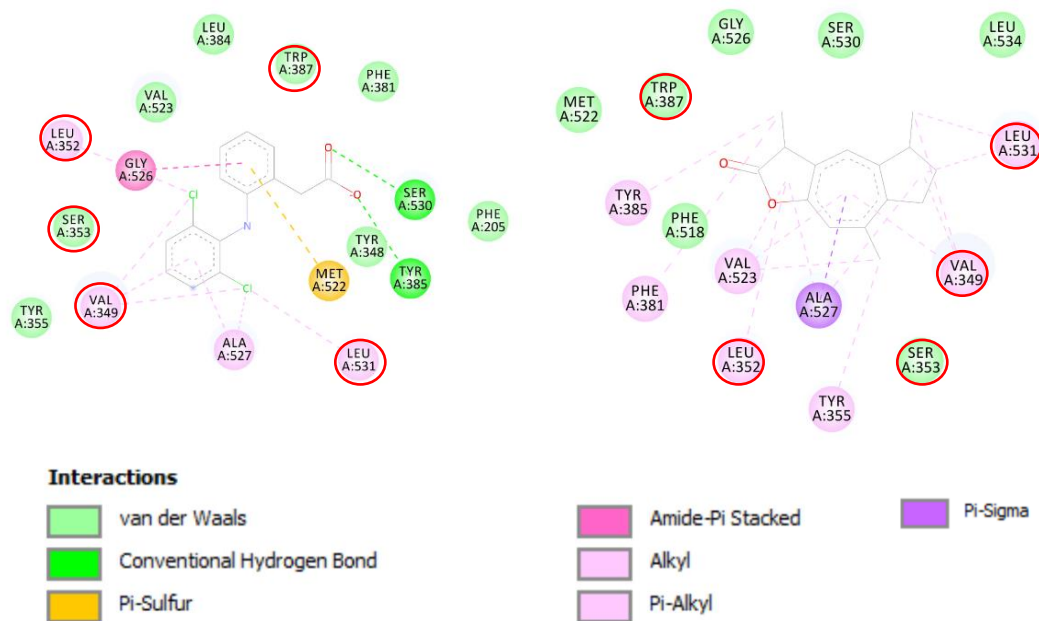
Tabel 9. Hasil *docking* molekuler terhadap protein PTGS2

Senyawa	$\Delta G_{binding}$ (kkal/mol)	SD	Interaksi residu AA	
			Hidrogen	Non-hidrogen
Ligan asli	-8,4	0	Ser530, Tyr385	Met522, Leu531, Ala527, Val349, Gly526, Phe381, Phe205, Tyr348, Tyr355, Ser353, Val523, Leu384, Trp387, Leu352
Gweicurculactone	-9,2	0	-	Val349, Ala527, Leu531 , Ser530, Gly526 , Trp387, Val523, Try355, Ser353 , Phe518, Phe381, Leu352 , Tyr385, Met522 , Leu534
Alismol	-8,8	0	Tyr385	Val349, Ala527, Leu531, Val523 , Trp387, Gly526, Leu352 , Phe518
Curcumenol	-8,4	0	-	Val349, Ala527, Ser353, Tyr355, Val523 , Trp387, Gly526, Leu352, Ser530 , Tyr385, Tyr348, Leu531 , Phe518
Kontrol negatif	-6,2	0	ser530	Val349, Ala527, Leu531, Tyr355, Val523, Leu352

Cetak tebal: kesamaan asam amino yang berinteraksi

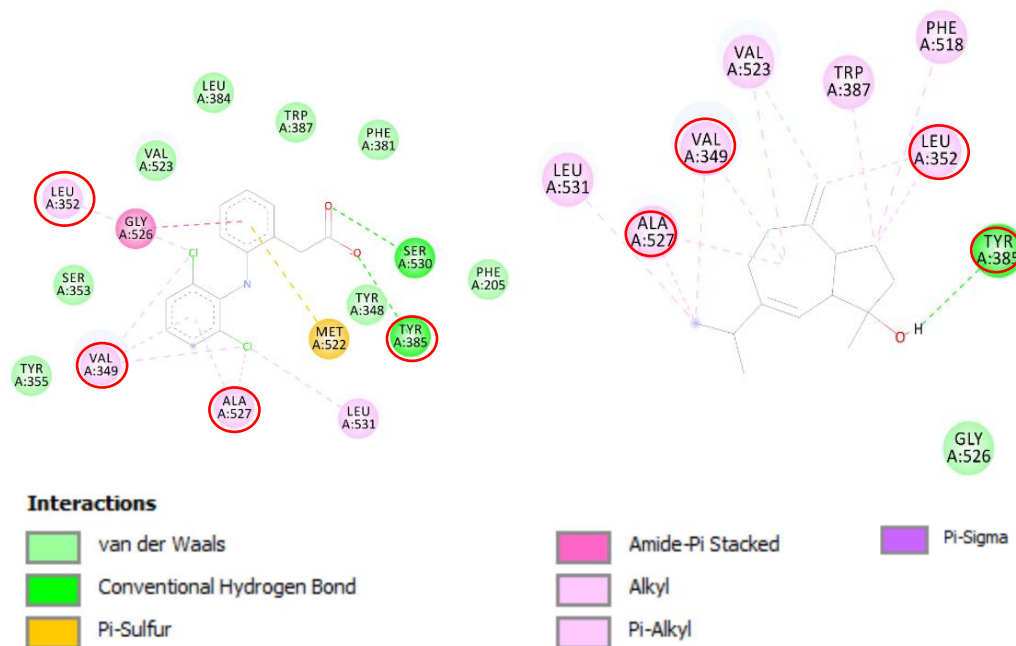
Pada tabel tersebut diberikan data mengenai tiga senyawa terbaik dengan nilai $\Delta G_{binding}$ rata-rata tertinggi, standar deviasi dari tiga kali replikasi percobaan dan data interaksi residu asam amino yang terlibat serta residu asam amino yang terlibat pada interaksi ligan reseptor.

Diklofenak sebagai ligan asli sekaligus pembanding positif inhibitor PTGS2 berinteraksi dengan residu pada *binding site* melalui ikatan hidrogen, ikatan aromatik dan hidrofobik. Diklofenak berinteraksi dengan Ser530 dan Tyr385 melalui ikatan hidrogen pada gugus karboksilat dari diklofenak (gambar 11). Rowlinson *et al.* (2003) menyatakan bahwa residu Ser530 dan Tyr385 penting untuk aktivitas penghambatan PTGS2. Hasil *redocking* diklofenak memberikan nilai $\Delta G_{binding}$ sebesar -8,4 kkal/mol. Angka ini lebih besar dari dengan gweicurculactone dan alismol.



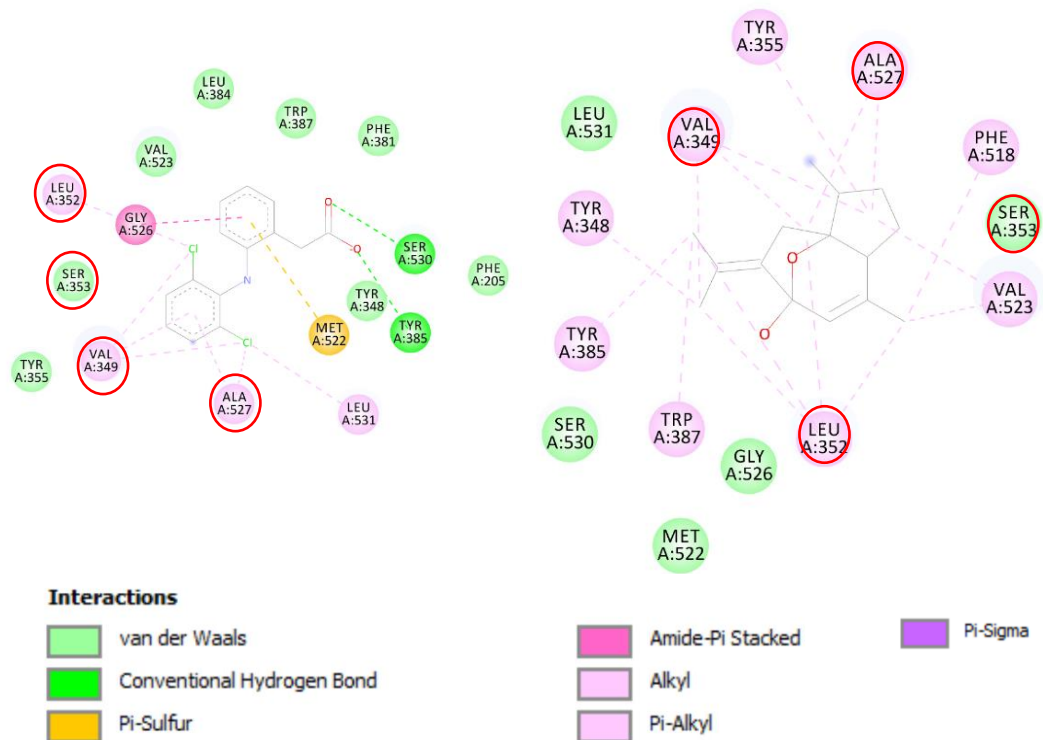
Gambar 11. Diagram interaksi Gweicurculactone (kanan) dibandingkan terhadap ligan asli (kiri)

1.1. Gweicurculactone. Gweicurculactone memiliki skor *docking* tertinggi pada enzim PTGS2 yaitu sebesar -9,2 kkal/mol. Gweicurculactone menempati *binding site* yang sama dengan diklofenak hal ini terlihat dari banyaknya kesamaan residu asam amino yang berinteraksi dengan senyawa seperti yang terlihat pada gambar 11. Cincin sikloheptena dari gweicurculactone berinteraksi melalui interaksi π dengan Val349 dan Ala527 sebagaimana pada cincin aril pada diklofenak. Selain itu jumlah residu asam amino pada sisi aktif enzim yang berinteraksi dengan gweicurculactone jumlahnya lebih banyak dibandingkan dengan diklofenak hal ini menyebabkan gweicurculactone memiliki skor yang lebih kecil dibandingkan dengan diklofenak. Seperti terlihat pada gambar 11, terdapat lima interaksi ligan-residu asam amino yang identik antara gweicurculacton dan diklofenak (lingkaran merah). Namun tidak terdapat ikatan hidrogen pada residu Ser530 dan Tyr385 dengan gweicurculactone, interaksi hanya terjadi secara hidrofobik dan *van der waals*. Gweicurculactone diketahui memiliki aktivitas anti inflamasi yang baik (Tungcharoen *et al.* 2018)



Gambar 12. Diagram interaksi Alismol (kanan) dibandingkan dengan ligan asli (kiri)

1.2. Alismol. Alismol merupakan senyawa terbaik kedua berdasarkan urutan nilai energi bebas ikatan (-8,8 kkal/mol). Selain diketahui memiliki aktivitas sitotoksik pada *cell line* MCF-7 alismol juga diketahui memiliki aktivitas antiinflamasi dengan menurunkan jumlah prostaglandin E2 (Shi *et al.* 2017). Alismol berada di rangking kedua dengan energi bebas sebesar -8,8 atau lebih besar daripada gweicurculactone. Alismol menempati *binding site* yang sama dengan diklofenak, seperti yang terlihat pada gambar 12. Alismol juga berinteraksi dengan residu Tyr385 melalui ikatan hidrogen namun tidak berinteraksi sama sekali dengan Ser530. Sama halnya dengan gweicurulacton, alismol juga berinteraksi dengan Val349 dan Ala527 pada cincin sikloheptena.



Gambar 13. Diagram interaksi Curcumenol (kanan) dibandingkan dengan ligan asli (kiri)

1.3. Curcumenol. Sama halnya dengan gweicurculactone dan alismol, curcumenol juga menempati *binding* site yang sama dengan pembanding positif diklofenak. Pada curcumenol tidak ditemui ikatan hidrogen dengan residu asam amino pada *binding site*. Residu Tyr385 hanya berinteraksi secara hidrofobik sedangkan Ser530 hanya berinteraksi secara *van der waals* dengan curcumenol. Seperti yang terlihat pada Gambar 13 curcumenol memiliki setidaknya empat interaksi ligan-residu asam amino yang identik dengan ligan asli. Pada penelitian yang berbeda menunjukkan bahwa curcumenol memiliki aktivitas antiinflamasi melalui penghambatan jalur sinyal p38 MAPK (Lo *et al.* 2015).

Berdasarkan data interaksi terjadi keterulangan interaksi antara struktur siklis utama pada tiga senyawa uji dengan gugus Ala527 dan Val349. Pada ligan asli kedua residu ini berinteraksi pada cincin aromatis benzen dari diklofenak. Keterulangan interaksi juga terjadi antara Leu352 dan gugus samping dari cincin

siklis dari ketiga ligan uji, hal ini mirip dengan pola interaksi Leu352 yang terjadi pada ligan asli (diklofenak) di mana Leu352 juga berinteraksi dengan Cl yang terikat dengan cincin benzen.

Berdasarkan *docking* molekuler gweicurculacton, alismol dan curcumenol memiliki potensi untuk dapat menghambat enzim COX-2 hal ini dapat berkorelasi dengan aktivitas sitotoksiknya terhadap sel kanker payudara.

2. Estrogen reseptor alpha

Gen estrogen reseptor alfa (ESR1) diketahui mengalami amplifikasi pada mayoritas pasien kanker payudara termasuk pada kanker payudara jinak. Amplifikasi gen ESR1 berkaitan erat dengan over ekspresi reseptor estrogen alfa yang dapat meningkatkan proliferasi, invasi, kemampuan bertahan hidup sel kanker. (Holst *et al.* 2006 ; Platet *et al.* 2004). Reseptor estrogen alfa pada sel MCF-7 diketahui berperan dalam proliferasi sel dengan memicu terjadinya fase S pada siklus sel melalui peningkatan ekspresi dari *proliferating cell nuclear antigen* (PCNA) dan Ki-67 serta menekan ekspresi dari p21 dan p53 hal ini meningkatkan ekspresi dari E2F1 yang mengatur transkripsi gen-gen yang dibutuhkan untuk perpindahan dari siklus G₁ ke S (Liao *et al.* 2014).

Hasil dari *docking* molekuler terhadap protein 3ERT dengan tiga senyawa terbaik yang memiliki nilai energi bebas terkecil tersaji pada tabel 10. Hasil *docking* terhadap ligan asli (4-Hidroxytamoxifen) yang berinteraksi dengan *binding site* 3ERT melalui interaksi hidrofobik, π -kation dan *unfavorable donor-donor*. Interaksi π -kation terjadi pada residu Trp383 dan Asp351 terhadap kation amida, *unfavorable donor-donor* terjadi antara Arg394 dan gugus hidroksil. Namun, pola interaksi ligan hasil *redocking* terdapat perbedaan yang cukup besar jika dibandingkan dengan pola interaksi dari struktur *x-ray*. Perbedaan terletak pada mode interaksi ligan asli dengan residu Arg394, Trp383 dan Asp351. Hal tersebut kuat dugaan terjadi karena pengaruh dari eliminasi molekul air dari *binding site* saat proses preparasi.

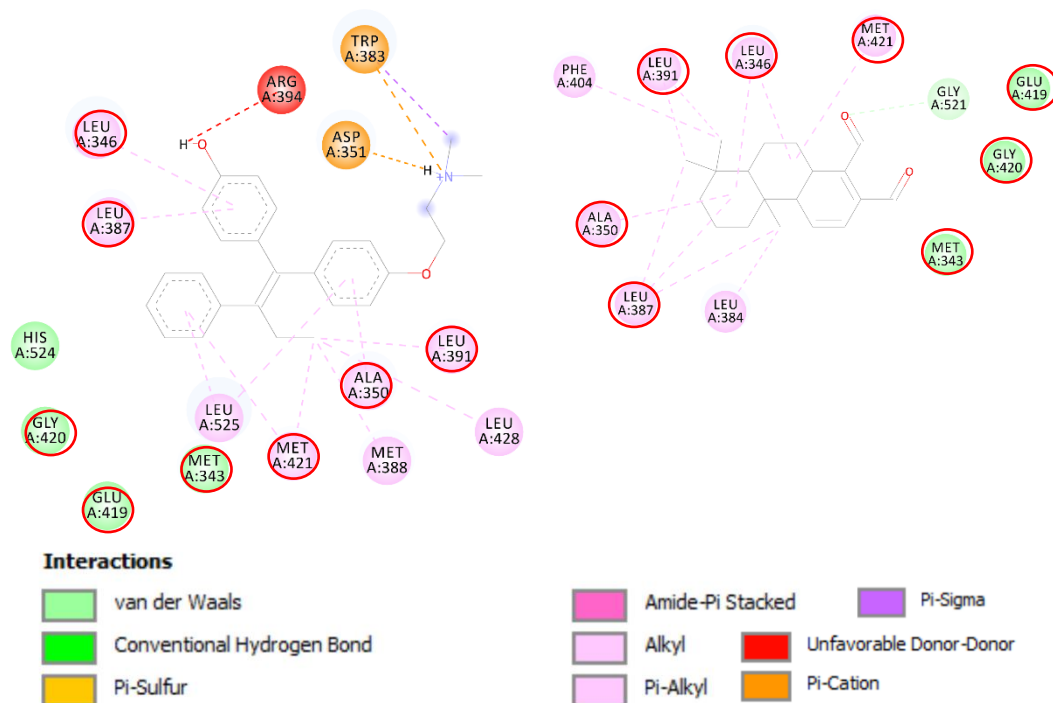
Tabel 10. Hasil *docking* molekuler terhadap protein ESR1

Senyawa	$\Delta G_{binding}$ (kkal/mol)	SD	Interaksi AA
Ligan asli	-9,3	0,6928	Trp383, Asp351, Arg394 Ala350, Leu387, Met343, Leu525, Gly420, Leu346, Leu428, Met388, Glu419, His524, Met421, Leu391
λ -8(17),12diene-15,16dial	-9,4	0	Leu391, Ala350, Leu346, Gly420, Met343, Met421 , Leu384, Gly521, Phe404, Leu387 Glu419 Ala350, Trp383, Leu387 , Leu349, Met343 , Leu384, Leu525 , Phe404, Leu346, Leu428, Met388, Leu391, Met421
Neocurdione	-8,6	0	Ala350, Trp383 , Leu349, Leu384, Leu525 , Phe404, Leu346 , Met348, Met421, Leu391, Ile424
Zerumbone epoxide	-8,6	0	
Kontrol negatif	-5,9	0	

Cetak tebal: kesamaan asam amino yang berinteraksi

Shiau (1998) menyatakan bahwa interaksi 4-hidroxytamoxifen dengan reseptor estrogen alfa menyebabkan perubahan konformasi heliks ke-12 yang merupakan daerah koaktivator, perubahan konformasi ini menyebabkan *binding site* dari koaktivator tertutup sehingga proses transduksi sinyal selanjutnya tidak terjadi dan proses proliferasi sel terhambat.

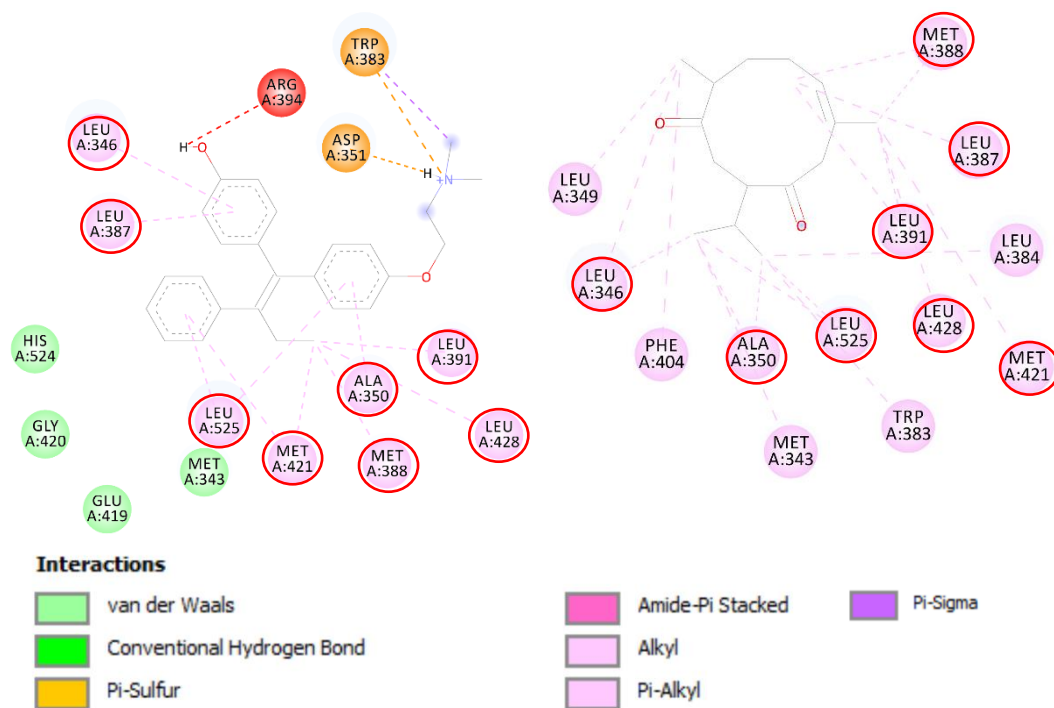
2.1. λ -8(17),12diene-15,16dial. Senyawa ini memberikan skor *docking* - 9,4 kkal/mol, hal ini lebih baik dibandingkan ligan asli. Seperti yang terlihat pada Gambar 14, senyawa ini menempati *binding pocket* yang sama dengan ligan asli yang dapat dilihat dari kesamaan residu asam amino yang berada di sekitar senyawa. Selain itu terdapat delapan interaksi yang identik dengan interaksi pada ligan asli (ditandai dengan lingkaran merah).



Gambar 14. Diagram interaksi senyawa λ (kanan) dibandingkan terhadap ligan asli (kiri)

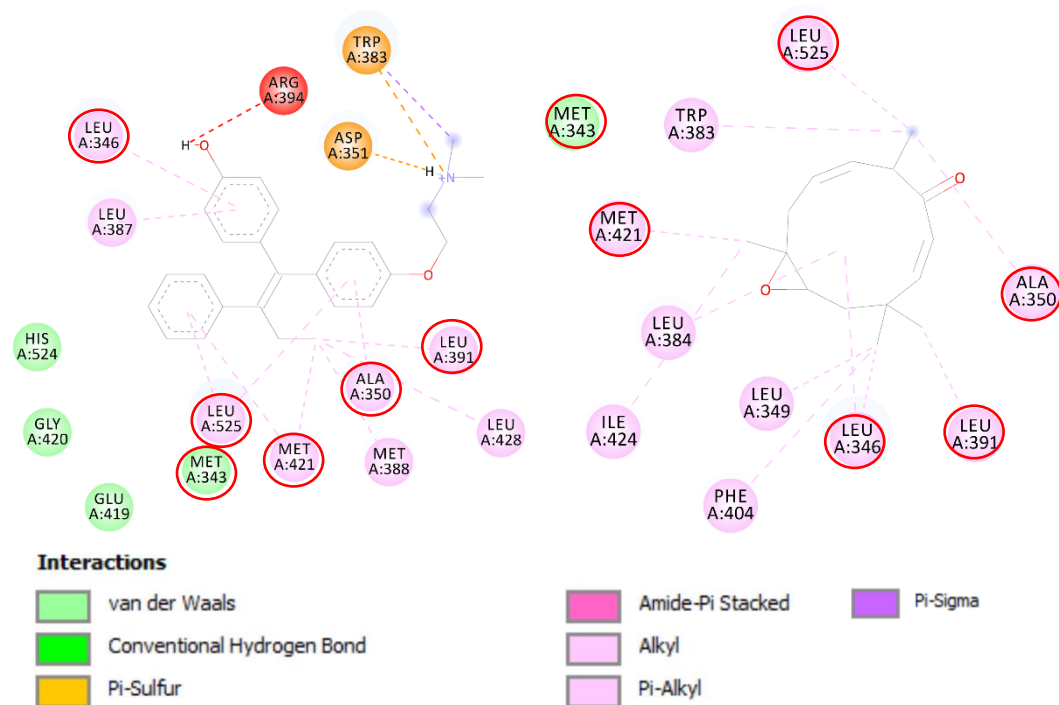
Senyawa ini diketahui memiliki aktivitas terhadap sel kanker payudara dengan nilai IC_{50} sebesar 16,3 $\mu\text{g/ml}$ (Hamdi *et al.* 2014), namun tidak memiliki aktivitas terhadap sel kanker leukemia (CCRF-CEM) dan sel kanker payudara ER negatif (MDA-MB-231-pcDNA3) (Kuate *et al.* 2014), hal ini memperkuat dugaan bahwa mekanisme sitotoksik dari senyawa ini ialah sebagai inhibitor dari estrogen reseptor alfa.

2.2. Neocurdione. Senyawa ini berada pada peringkat kedua pada hasil *docking* molekuler dengan nilai energi bebas sebesar -8,6 kkal/mol. Sebagaimana dengan senyawa sebelumnya, neocurdione berinteraksi dengan reseptor target pada *binding pocket* yang sama dengan ligan asli. Selain itu pada Gambar 15 dapat diketahui terdapat delapan interaksi ligan-residu yang identik dengan interaksi yang terjadi pada ligan asli (4-Hidroxytamoxifen)



Gambar 15. Diagram interaksi Neocurdione (kanan) dibandingkan terhadap ligan asli (kiri)

2.3. Zerumbone epoxide. Senyawa ini memiliki skor *docking* sebesar -8,6 kkal/mol. Zerumbone epoxide memiliki lebih sedikit interaksi yang identik dengan interaksi pada ligan asli. Seperti yang terlihat pada gambar 15 terdapat kesamaan residu asam amino yang berinteraksi namun dengan cara yang berbeda. Pada ligan asli Met343 berinteraksi dengan ligan melalui interaksi *van der waals* namun pada Zerumbone epoxide berinteraksi melalui interaksi hidrofobik alkil. Residu Trp383 pada ligan asli berinteraksi secara π -sulfur sedangkan pada zerumbone epoxide interaksi yang terbentuk adalah interaksi hidrofobik.



Gambar 16. Diagram interaksi Zerumbone epoxide (kanan) dibandingkan terhadap ligan asli (kiri)

3. Heat Shock Protein 90A

HSP90A dari berbagai penelitian diketahui memiliki peran dalam berbagai *pathway* kanker karena memiliki fungsi untuk perlipatan dan perlindungan beberapa protein yang terlibat di dalam *pathway* kanker. Sehingga penghambatan kerja dari HSP90A dapat menghambat perkembangan dan memicu kematian sel kanker (schopf *et al.* 2017).

Hasil *docking* terhadap protein HSP90A ditunjukkan pada tabel 11 dengan ligan terbaik yaitu gweicurculactone dengan skor -10,43 kkal/mol. Angka tersebut lebih baik dibandingkan dengan ligan asli yang sebesar -10,3 kkal/mol sedangkan pembanding negatif hanya memberikan skor *docking* sebesar -6,2 kkal/mol. Ligan asli merupakan kandidat inhibitor HSP90A yang memiliki nilai IC₅₀ terhadap kanker payudara sebesar 14 nM (Shi *et al.* 2012).

Residu asam amino yang terdapat pada *binding pocket* HSP yaitu Asp93, Asn51, thr184, gly97, leu48, ser52, asam amino tersebut pada umumnya

berinteraksi secara hidrofobik. Sedangkan pada met98, leu107, val150, phe138, Ala55, val186 dan ile96 (AlSaher *et al.* 2016).

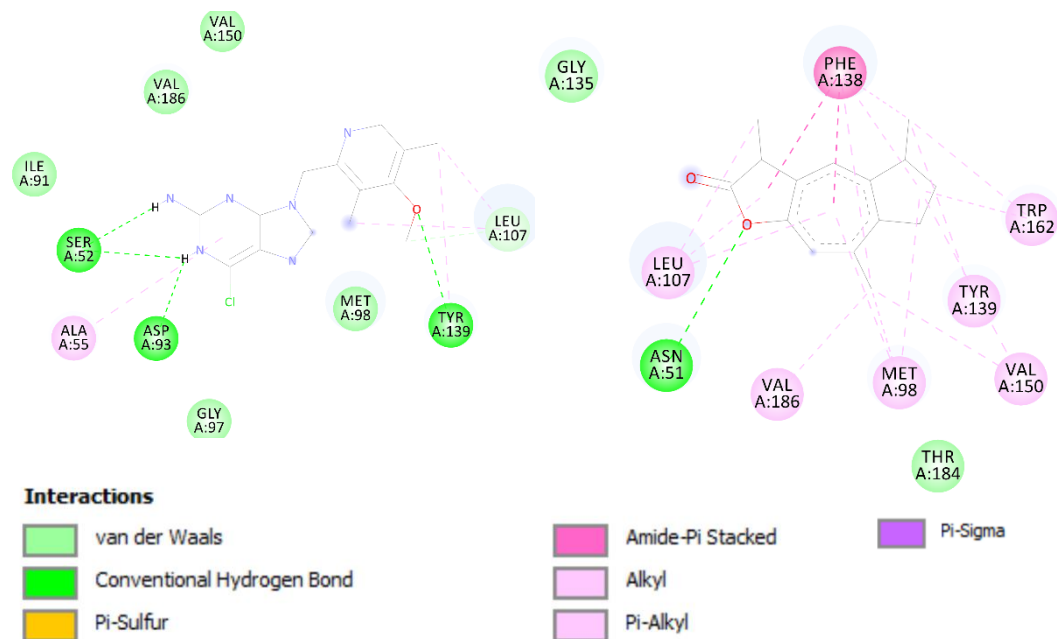
Tabel 11. Hasil *docking* molekuler terhadap protein HSP90A

Senyawa	$\Delta G_{binding}$ (kkal/mol)	SD	Interaksi residu AA	
			Hidrogen	Non-hidrogen
Ligan asli	-8,7333	0.0577	Tyr139, asp93, ser52	Ala55, Val150, Ile91, Gly97, Met98, Ileu107, Val186, Gly135
Gweicurculactone	-10,43	0.0577	Asn51	Phe138, Leu107 , Val186 , Met98 , Tyr139, Val150 , Trp162, Thr184
Procurcumenol	-8,6	0		Trp162, Leu107 , Phe22, Tyr139, Phe138, Met98 , Gly108, Ile110
Zerumin A	-8,36	0.0577	Tyr139	Phe138, Val186 , Ile96, Leu107 , Met98 , Ala55, Thr184, Gly97 , Trp162
Kontrol negatif	-6.26667	0.0577		

Cetak tebal: kesamaan asam amino yang berinteraksi

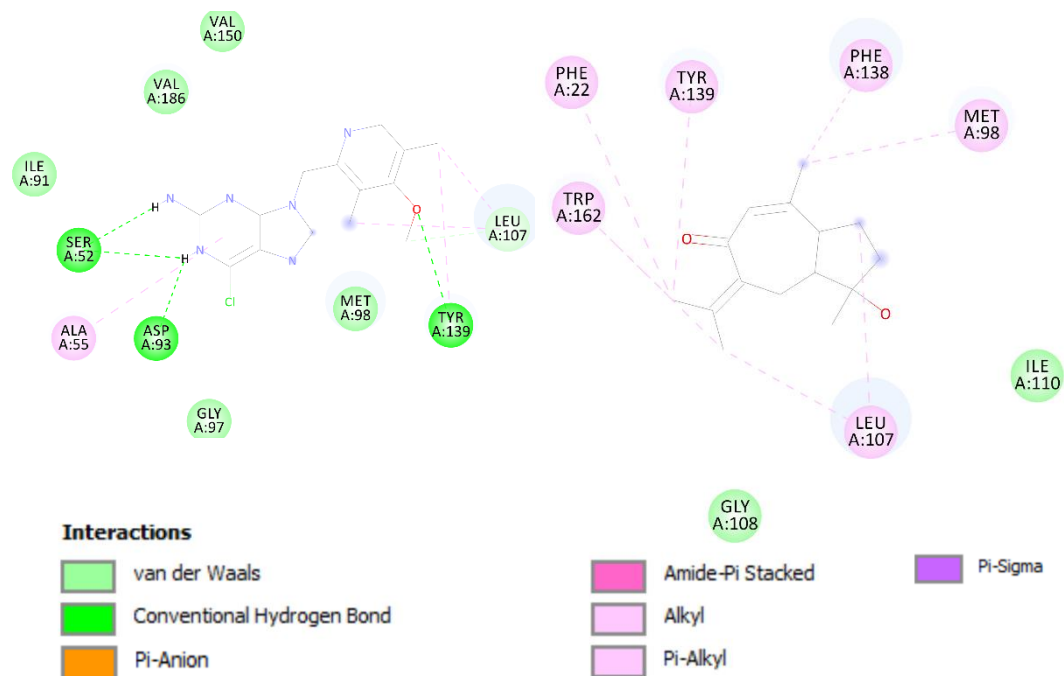
3.1. Gweicurculactone. Gweicurculactone menempati *binding pocket* yang sama seperti ligan asli hanya saja tidak terdapat ikatan hidrogen dengan Tyr139, Asp93 dan Ser52 seperti pada ligan asli. Tidak seperti pada hasil *docking* sebelumnya, pada gweicurculacton-HSP90A tidak ditemui residu asam amino yang jenis ikatannya sama dengan jenis ikatan ligan asli. Gweicurculacton berinteraksi dengan residu Asn51 secara ikatan hidrogen, walaupun interaksi dengan Asn51 tidak terdapat pada ligan asil Asn51 juga merupakan salah satu residu pada *binding pocket* yang berperan untuk penghambatan protein target.

Gweicurculactone memberikan skor *docking* tertinggi pada protein target HSP90 yang sekaligus merupakan skor tertinggi secara keseluruhan dari penelitian ini yaitu sebesar -10,43 kkal/mol. Selain memiliki nilai interaksi terbaik dengan HSP90, gweicurculactone juga memiliki nilai interaksi terbaik di PTGS2. Namun hal ini berlawanan dengan data *in vitro*, gweicurculacton diketahui memiliki nilai IC_{50} terhadap sel MCF-7 sebesar 31,2 $\mu\text{g/ml}$, nilai IC_{50} ini tidak lebih baik dari senyawa lainnya.



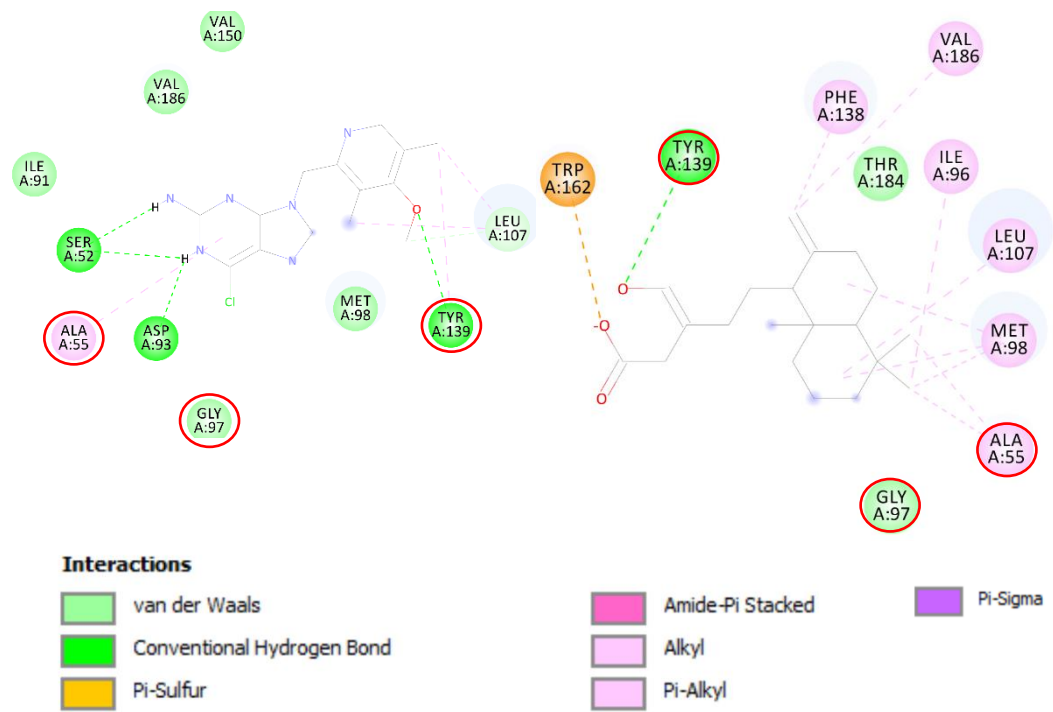
Gambar 17. diagram interaksi Gweicurculactone (kanan) dibandingkan terhadap ligan asli (kiri)

3.2. Procurcumenol. Procurcumenol memiliki nilai energi bebas ikatan sebesar -8,6 kkal/mol dan berada di urutan kedua dengan skor *docking* terbaik untuk target HSP90A. Procurcumenol menempati *binding pocket* yang sama seperti ligan asli sebagaimana terlihat pada tabel 11, terdapat kesamaan interaksi residu asam amino antara procurcumenol dan ligan asli walaupun tidak terdapat interaksi yang identik untuk setiap residu yang terlibat. Ikatan hidrogen juga tidak terjadi antara procurcumenol dan HSP90. Tyr139 di mana pada ligan asli membentuk ikatan hidrogen dengan gugus hidroksil ligan asli, hanya berinteraksi secara hidrofobik dengan procurcumenol.



Gambar 18. Diagram interaksi Procuremenone (kanan) dibandingkan terhadap ligan asli (kiri)

3.3. Zerumin A. Zerumin A diketahui memiliki aktivitas antiproliferasi dan antiangiogenesis (He *et al.* 2018). Secara spesifik, Zerumin A memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel MCF-7 (Malek *et al.* 2011). Senyawa ini Seperti pada gambar 19, Zerumin A berinteraksi dengan *Binding pocket* yang sama dengan terdapat tiga residu dan cara interaksi yang identik dengan ligan. Terdapat satu ikatan hidrogen yang terjadi dengan residu Tyr139 serta interaksi π -anion yang terjadi antara residu Trp162 dan gugus karboksilat. Sama halnya dengan procuremenol, pada zerumin A tidak tampak interaksi pada gugus siklis, interaksi hanya terdapat gugus samping.



Gambar 19. Diagram interaksi Zerumin A (kanan) dibandingkan terhadap ligan asli (kiri)

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan dari penelitian yang telah dilakukan dapat diperoleh kesimpulan bahwa.

Pertama, PTGS2, ESR1 dan HSP90 diprediksi sebagai target molekuler potensial dari kandungan kimia rimpang kunyit putih (*Curcuma zedoaria*) sebagai antikanker payudara.

Kedua, Gweicurculactone, Alismol, Curcumenol, λ -8(17),12diene-15,16dial, Neocurdione, Zerumbone epoxide, Procurcumenol dan Zerumin A diprediksi memiliki interaksi lebih baik dari ligan asli target molekuler kanker payudara secara studi molekuler *docking*.

B. Saran

Pertama, hasil data interaksi perlu diteliti lebih lanjut menggunakan metode *molecular dynamic* untuk memperoleh data interaksi yang lebih komprehensif.

Kedua, penelitian perbandingan dapat dilakukan dengan menggunakan *software docking* yang berbeda seperti GOLD, Glide, DOCK6.

Ketiga, hasil penelitian ini merupakan prediksi afinitas, sehingga perlu dilakukan validasi menggunakan uji MTT, *Western Blotting* atau metode *in vitro* lain yang sesuai.

Keempat, perlu dilakukan studi lebih lanjut terkait farmakofor senyawa serta desain senyawa analog untuk meningkatkan aktivitasnya.

DAFTAR PUSTAKA

- [ACS] American Cancer Society. 2015. Global Cancer Facts & Figures (3rd ed.). Atlanta: American Cancer Society.
- [KEGG] Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. 2018. Breast Cancer Homo sapiens(Human). http://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?hsa05224 [10 Mar 2018].
- [NCI] National Cancer Institue. 2015. Understanding Cancer. <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer> [20 Feb 2018].
- [USDA] United State Department of Agriculture. Plants Profile for Curcuma zedoaria (zadoary). <https://plants.usda.gov/core/profile?symbol=CUZE> [20 Feb 2018].
- Al-Nimer MSM, Hameed HG dan Mahmood MM. 2015. Antiproliferative effects of aspirin and diclofenac against the growth of cancer and fibroblast cells: *In vitro* comparative study. *Saudi Pharm J* 23(5): 483–486.
- AlSaher MA *et al.* 2016). Discovery of new heat shock protein 90 inhibitors using virtual co-crystallized pharmacophore generation. *J Enzyme Inhib Med Chem* 31:64-77.
- Attwood TK., Gisel A, Eriksson NE dan Bongcam-Rudloff E. 2011. Concepts, Historical Milestones and the Central Place of Bioinformatics in Modern Biology: A European Perspective, Bioinformatics, Mahmood A. Mahdavi, IntechOpen, DOI: 10.5772/23535.
- Baudino TA. 2015. Targeted Cancer Therapy: The Next Generation of Cancer Treatment *Curr Drug Dis Techs* 12:3-20.
- Bing L, Liyan dan Shigui Y. 2015. Cyclooxygenase-2 promotes tumor growth and suppresses tumor immunity. *Cancer Cell Int.* 15.
- Bray F, Jemal A, Grey N , Ferlay J dan Forman D. 2012. Global cancer transitions according to the Human Development Index (2008–2030): a population-based study. *The Lancet Oncology.*13:790–801.
- Chen SJ dan Ren LJ. 2014. Identification of a Potential Anticancer Target of Danshensu by Inverse *Docking*. *Asian Pac J Cancer Prev* 15:111-116.
- Chow LW, Yip AY, Loo WT, Lam CK, Toi M. 2008. Celecoxib anti-aromatase neoadjuvant (CAAN) trial for locally advancedbreast cancer. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 111(1-2):13-7.
- Cosconati S *et al.* 2010. Virtual Screening with AutoDock: Theory and Practice. *Expert Opin Drug Discov* 5: 597–607.

- Dai X, Xiang L, Li T, Bai Z. 2016. Cancer Hallmarks, Biomarkers and Breast Cancer Molecular Subtypes. *J Cancer* 7:1281–1294.
- Davies J *et al.* 2003. Correlation between cyclooxygenase-2 expression and angiogenesis in human breast cancer. *Clin. Cancer Res.* 9 (7) 2651–2656.
- Forli S *et al.* 2016. Computational Protein-Ligand *Docking* And Virtual Drug Screening With The Autodock Suite. *Nat Protoc* 11:905-919.
- Hamdi OA. 2014. Cytotoxic constituents from the rhizomes of curcuma zedoaria. *Sci World J.*
- Hanahan D, Weinberg RA. 2011. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell.* 144: 646-674.
- Hare dan Harvey. 2017. mTOR function and therapeutic targeting in breast cancer. *Am J Cancer Res* 7:383-404.
- He ZH *et al.* 2012. Anti-angiogenic effects of the fruit of *Alpinia oxyphylla*. *J Ethnopharmacol.* 132(2).
- Holst F *et al.* 2007. Estrogen receptor alpha (ESR1) gene amplification is frequent in breast cancer. *Nat Genet* 39(5):655-6.
- Huang C *et al.* 2017. Celecoxib targets breast cancer stem cells by inhibiting the synthesis of prostaglandin E₂ and down-regulating the Wnt pathway activity. *Oncotarget.* 8(70): 115254–115269.
- Iqbal N dan Iqbal N. 2014. Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2) in Cancers: Overexpression and Therapeutic Implications. *Mol Biol Int.*
- Jeselson R, Buchwalter G, Angelia CD, Brown M, Scihiff. 2015. ESR1 Mutations As A Mechanism For Acquired Endocrine Resistance In Breast Cancer. *Nat Rev Clin Oncol* 12:573-583.
- Kementrian Kesehatan RI, Pusat Data dan Informasi Kesehatan. 2015. *Info Datin Stop Kanker.* infodatin-Kanker.
- Kong Q, Ma Y, Yu J, Chen Z. 2017. Predicted molecular targets and pathways for germacrone, curdione, and furanodiene in the treatment of breast cancer using a bioinformatics approach. *Sci Reports.*
- Kuete V *et al.* 2014. Cytotoxicity of four *Aframomum* species (*A. arundinaceum*, *A. albobviolaceum*, *A. kayserianum* and *A. polyanthum*) towards multi-factorial drug resistant cancer cell lines. *BMC Complement Altern Med* 14: 340.
- Lakshmi S, Padmaja G dan Remani P. 2011. Antitumour Effects of Isocurcumenol Isolated from *Curcuma zedoaria* Rhizomes on Human and Murine Cancer Cells. *Int J Med Chem.*

- Liao XH. 2013. Estrogen receptor α mediates proliferation of breast cancer MCF-7 cells via a p21/PCNA/E2F1-dependent pathway. *FEBSJ* 281(3).
- Liu Z, *et al.* 2016. BATMAN-TCM: a Bioinformatics Analysis Tool for Molecular mechANism of Traditional Chinese Medicine. *Sci Reports*.
- Lo JY, Kamarudin MN, Hamdi OA, Awang K, Kadir HA.. 2015. Curcumenol isolated from *Curcuma zedoaria* suppresses Akt-mediated NF- κ B activation and p38 MAPK signaling pathway in LPS-stimulated BV-2 microglial cells. *Food Funct* 6:3550-3559.
- Lu YH, Gao XQ, Wu M, Zang-Negrerie D dan Gao Q. 2011. Strategies on the Development of Small Molecule Anticancer Drugs for Targeted Therapy. *Mini-Reviews in Med Chem* 11:611-624.
- Malek SNA *et al.* 2011. Phytochemical and Cytotoxic Investigations of *Curcuma mangga* Rhizomes. *Molecules* 16(6): 4539–4548.
- Marciel N dan Criley RA. 2003. Morphology, Growth and Flowering Behavior of *Curcuma zedoaria*. *Acta Hort* 624:111-116.
- Meng ZY, Zhang HX, Meizai M, Cui M. 2011. Molecular Docking: A powerful approach for structure-based drug discovery. *Curr Comput Aided Drug Des* 7:146-157.
- Miller KD, *et al.* 2016. Cancer treatment and survivorship statistics, *CA Cancer J Clin*. 66:271–289.
- Murray A, *et al.* 2017. Vitamin D Receptor As A Target for Breast Cancer Therapy. *Endocr Relat Cancer*. 4:181-195.
- Naghavi M *et al.* 2017. Global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet*, 390:1151–1210.
- Neal MJ. 2016. Medical Pharmacology at a Glance. Oxford:Wiley Blackwell.
- Newman DJ dan Giddings LA. 2014. Natural products as leads to antitumor drugs. *Phytochem rev* 13:123-137.
- Pantziarka P, Sukhatme V, Bouche G, Meheus L, Sukhatme VP. 2016. Repurposing Drugs in Oncology (ReDO)—diclofenac as an anti-cancer agent. *Ecancermedicalscience* 10.
- Parven I, Ahmed N, Danish I, Parvez K dan Hassan MI. 2017. Synthesis, Estrogen Receptor Binding Affinity And Molecular Docking Of Pyrimidine-Piperazine-Chromene And -Quinoline Conjugates. *Bioorganic & Med Chem Let*.

- Platet N, Cathiard AM, Gleizes M, Garcia M. Estrogens and their receptors in breast cancer progression: a dual role in cancer proliferation and invasion. *Crit Rev Oncol Hematol* 51(1):55-67.
- Rahman SN, Wahab, NA dan Malek S N. 2013. In Vitro Morphological Assessment Of Apoptosis Induced By Antiproliferative Constituents From The Rhizomes Of *Curcuma Zedoaria*. *Ev-Bsd Comp and Alt Med*.
- Rosendahl AH *et al.* 2015. Caffeine and Caffeic Acid Inhibit Growth and Modify Estrogen Receptor and Insulin-like Growth Factor I Receptor Levels in Human Breast Cancer. *Clin Cancer Res* 21(8).
- Rowlinson SW *et al.* 2003. A novel mechanism of cyclooxygenase-2 inhibition involving interactions with Ser-530 and Tyr-385. *J Biol Chem*. 278(46).
- Schopf FH, Biebl MM, Buchner J. 2017. The HSP90 chaperone machinery. *Nat Rev Mol Cell Biol* 18(6):345-360.
- Searls DB. 2000. Using bioinformatics in gene and drug discovery. *Drug Discov Today* 5(4):135-143.
- Shaiu AK *et al.* The Structural Basis of Estrogen Receptor/Coactivator Recognition and the Antagonism of This Interaction by Tamoxifen. *Cell*, (95), 927–937.
- Shi J *et al.* EC144 Is a Potent Inhibitor of the Heat Shock Protein 90. *J med Chem*.
- Sobolewski C. *et al* 2010. The Role of Cyclooxygenase-2 in Cell Proliferation and Cell Death in Human Malignancies. *Int J Cell Biol*.
- Subbaramaiah K. 2002. Cyclooxygenase-2 is overexpressed in HER-2/neu-positive breast cancer: evidence for involvement of AP-1 and PEA3. *J Biol Chem*. 277: 49-57.
- Trott O dan Olson AJ. 2011. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *J Comput Chem* 31:455-461.
- Tungcharoen *et al.* 2018. Antiinflammation constituents from *Curcuma zedoaroides*. *Phytother Res* 32(11):2312-2320.
- Ueng S. 2012. Phosphorylated mTOR expression correlates with poor outcome in early-stage triple negative breast carcinomas. *Int J Clin Exp Pathol* 5: 806–813.
- Wang J, Yao X, Huang J. 2017. New tricks for human farnesyltransferase inhibitor: cancer and beyond. *Medchemcomm* 8(5):841-854.
- Williams CS, Mann M, DuBois RN. 1999. The role of cyclooxygenases in inflammation, cancer, and development. *Oncogene*.

- Xia X. 2017. Bioinformatics and Drug Discovery. *Curr Top Med Chem* 17(15): 1709–1726.
- Yarden Y. 2001. The EGFR Family And Its Ligands In Human Cancer: Signalling Mechanisms And Therapeutic Opportunities. *Eur J Cancer* 37:3-8.
- Young DW *et al.* 2007. Integrating High-Content Screening And Ligand-Target Prediction To Identify Mechanism Of Action. *Nat Chem Bio* 4: 59–68.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Validasi BATMAN-TCM

Parameters adjustment:

Here you can change parameters. Change **Score cutoff** to 30.

Result 1: Target Prediction

Targets mapped to this term

ESR1; ESR2;

Close

Enrichment analysis results

As you set, these enrichment analyses are based on predicted candidate targets with scores ≥ 30 of each query TCM's ingredient. The significantly enriched functional terms (Gene ontology term, KEGG pathway and OMIM/TTD disease) are highlighted in red, whose adjusted P_values are smaller than 0.05

KEGG Pathway Disease Gene Ontology

Select disease data TTD

Enriched TTD diseases

TTD ID	Tamoxifen Adjusted p-value	Targets
Neurodegenerative diseases	1.15e-002	2
Breast cancer	4.07e-002	1
Cardiovascular disease, unspecified	1.05e-002	2
Vascular injury response	5.33e-002	1
Osteoporosis, unspecified	6.34e-002	1
B-lineage malignancies	1.13e-002	1
Dishevelled signaling pathway	2.17e-002	1

Targets mapped to this term

ESR1;

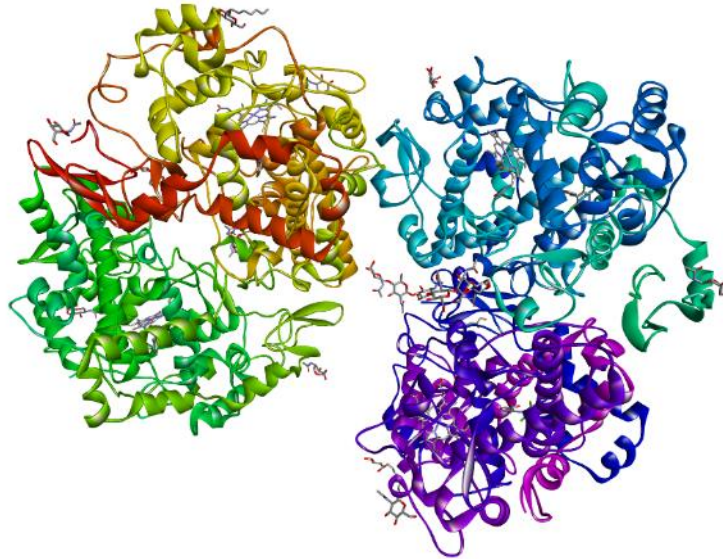
Close

Enriched OMIM diseases

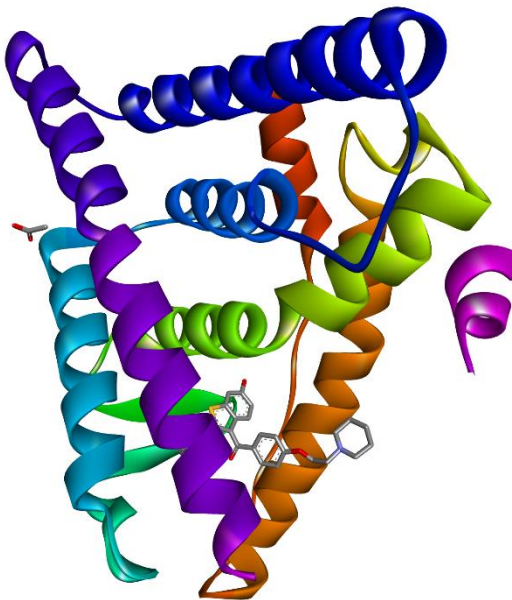
OMIM ID	Disease	Adjusted p-value	Targets
OMIM 615559	Immunodeficiency 9	1.15e-002	1
OMIM 302960	Chondrodysplasia Punctata 2, X-Linked Dominant	1.15e-002	1
OMIM 600000	Breast Cancer	2.10e-002	1
OMIM 608446	Myocardial Infarction, Susceptibility	1.39e-002	1
OMIM 605361	Spinocerebellar Ataxia 14	1.15e-002	1
OMIM 615363	Estrogen Resistance	1.15e-002	1
OMIM 157300	Migraine With Or Without Aura, Susceptibility To, 1	1.15e-002	1



Lampiran 3. Gambar protein



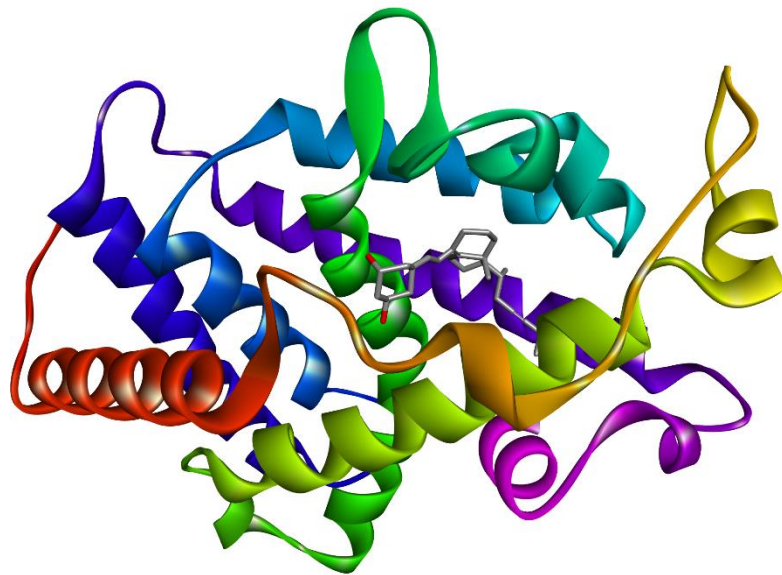
PTGS2 (1PXX)



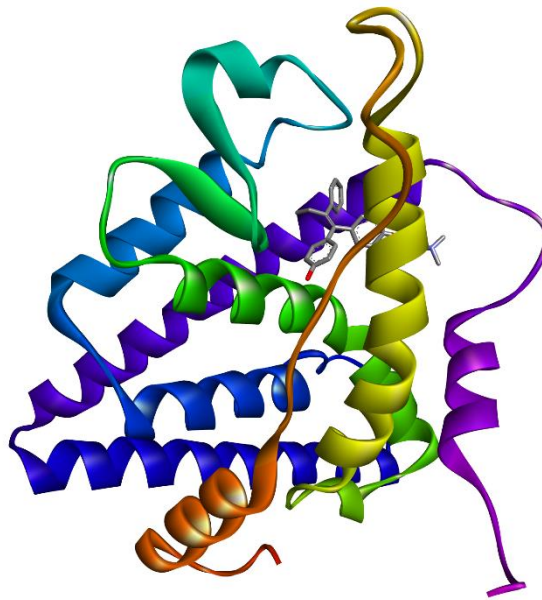
ESR2 (1QKN)



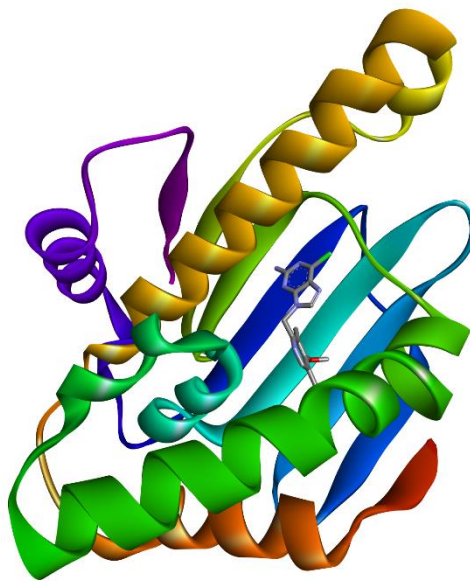
(1S63)



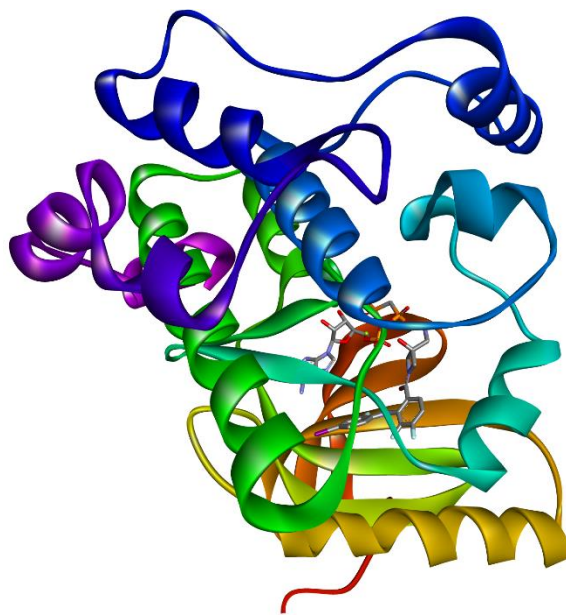
(1TXI)



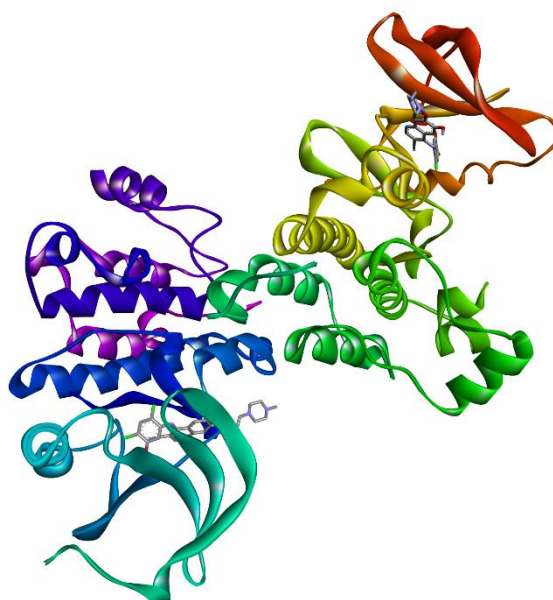
ESR1 (3ERT)



(3QDD)



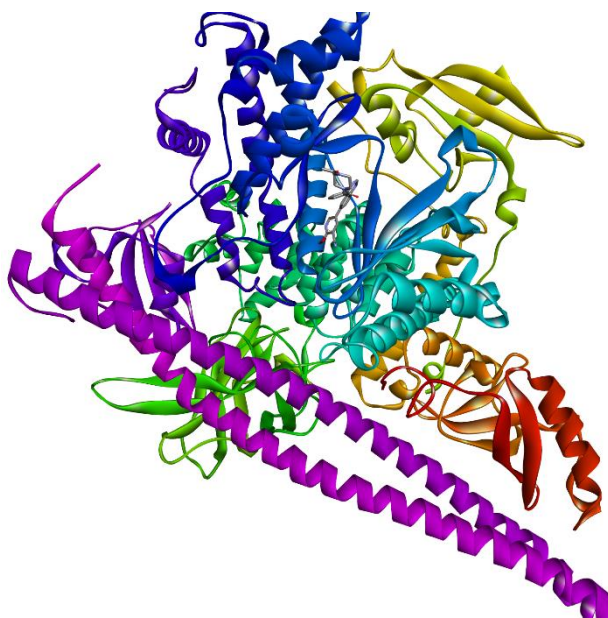
(4ANB)



4MXX



4OAR



5ITD

Lampiran 4. Data hasil docking

Senyawa	IC ₅₀	PTGS2					ESR2				
		1PXX			Rata-rata	STD	1QKN			Rata-rata	STD
Alismol	10 ^a	-8,8	-8,8	-8,8	-8,8	0	-8,2	-8,2	-8,2	-8,2	0
Calcaratarin A	62,5 ^b	-7,6	-7,5	-7,5	-7,53333	0,057735	-7,7	-7,7	-7,7	-7,7	0
Curcumanolide A	29,8 ^b	-7,6	-7,7	-7,6	-7,63333	0,057735	-7,6	-7,6	-7,6	-7,6	1,09E-15
Curcumenol	9,3 ^b	-8,4	-8,4	-8,4	-8,4	0	-7,7	-7,7	-7,7	-7,7	0
Curcumenone	8,3 ^b	-8,2	-8,2	-8,2	-8,2	0	-7,6	-7,6	-7,5	-7,56667	0,057735
Curcuzedoalide	49,8 ^b	-8	-8	-8	-8	0	-7,5	-7,5	-7,5	-7,5	0
Curzerenone	40 ^a	-8,2	-8,2	-8,2	-8,2	0	-6,7	-6,7	-6,8	-6,73333	0,057735
Dehydrocurdione	33 ^b	-7,2	-7,2	-7,2	-7,2	0	-7,4	-7,4	-7,4	-7,4	1,09E-15
Furanodiene	36,5 ^b	-8	-8	-8	-8	0	-8,1	-8,1	-8,1	-8,1	0
Germacrone	59,1 ^b	-7,9	-7,9	-7,9	-7,9	1,09E-15	-7,9	-7,9	-7,9	-7,9	1,09E-15
Germacrone-1,10-epoxide	37,2 ^b	-7,3	-7,3	-7,3	-7,3	0	-7,6	-7,6	-7,6	-7,6	1,09E-15
Germacrone-4,5-epoxide	61,2 ^b	-4,7	-4,7	-4,6	-4,66667	0,057735	-6,9	-6,9	-6,9	-6,9	1,09E-15
Gweicurculactone	31,2 ^b	-9,2	-9,2	-9,2	-9,2	0	-9	-9	-9	-9	0
Isoprocucumenol	58,8 ^b	-7	-7	-7	-7	0	-7,4	-7,4	-7,4	-7,4	1,09E-15
lamda	16,3 ^b	-8,2	-8,2	-8,2	-8,2	0	-7,4	-6,8	-7,5	-7,23333	0,378594
Neocurdione	53,5 ^a	-6,5	-6,5	-6,5	-6,5	0	-7,9	-7,9	-7,9	-7,9	1,09E-15
Procucumenol	16,1 ^b	-7,5	-7,5	-7,5	-7,5	0	-7,7	-7,7	-7,7	-7,7	0
Zerumbone epoxide	24,1 ^b	-8,3	-8,3	-8,3	-8,3	0	-8,2	-8,2	-8,2	-8,2	0
Zerumin A	22,3 ^b	-7,9	-7,9	-7,9	-7,9	1,09E-15	-8,1	-8,1	-8	-8,06667	0,057735
RMSD Native		0,848	0,847	0,852	0,849	0,002646	0,185	0,191	0,185	0,187	0,003464
Native Ligand		-8,4	-8,4	-8,4	-8,4	0	-11,7	-11,7	-11,7	-11,7	2,2E-15
Kontrol negatif Kafein		-6,2	-6,2	-6,2	-6,2	0	-5,9	-5,9	-5,9	-5,9	1,09E-15

Keterangan: (a) Rahman *et al.* (2013) ; (b) Hamdi *et al* (2014)

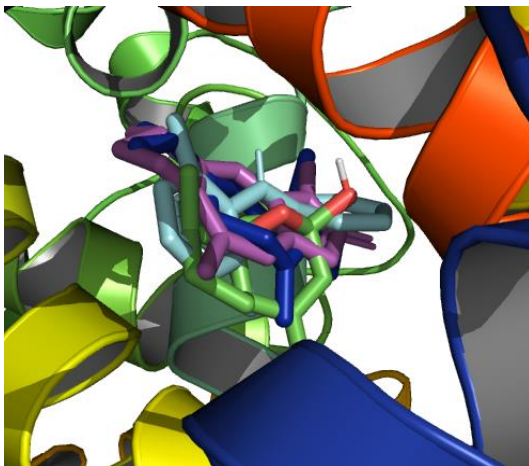
Senyawa	FNTA					VDR				
	1S63			Rata-rata	STD	1TXI			Rata-rata	STD
Alismol	-7,4	-7,4	-7,4	-7,4	1,088E-15	-7,9	-7,9	-7,9	-7,9	1,088E-15
Calcaratarin A	-7,7	-7,6	-7,7	-7,6666667	0,057735	-9	-9	-9	-9	0
Curcumanolide A	-7,4	-7,4	-7,4	-7,4	1,088E-15	-7,7	-7,7	-7,7	-7,7	0
Curcumenol	-7,5	-7,5	-7,5	-7,5	0	-7,9	-8	-7,9	-7,9333333	0,057735
Curcumenone	-7,6	-7,6	-7,5	-7,5666667	0,057735	-8,1	-7,6	-8,1	-7,9333333	0,2886751
Curcuzedoalide	-7,6	-7,5	-7,5	-7,5333333	0,057735	-7,9	-7,9	-7,9	-7,9	1,088E-15
Curzerenone	-7,4	-6,8	-7,4	-7,2	0,3464102	-7,4	-7,4	-7,4	-7,4	1,088E-15
Dehydrocurdione	-7,4	-7,4	-7,4	-7,4	1,088E-15	-7,9	-7,9	-7,9	-7,9	1,088E-15
Furanodiene	-7,6	-7,6	-7,6	-7,6	1,088E-15	-8,1	-8,1	-8,1	-8,1	0
Germacrone	-7,1	-7	-7,1	-7,0666667	0,057735	-8,2	-8,2	-8,2	-8,2	0
Germacrone-1,10-epoxide	-8,1	-8,1	-8,1	-8,1	0	-8,6	-8,6	-8,6	-8,6	0
Germacrone-4,5-epoxide	-7,1	-7,1	-7,1	-7,1	1,088E-15	-8,1	-8,1	-8,1	-8,1	0
Gweicurculactone	-8,2	-8,2	-8,2	-8,2	0	-9,1	-9,1	-9,1	-9,1	0
Isoprocurcumenol	-8,3	-8,3	-8,3	-8,3	0	-7,7	-7,7	-7,7	-7,7	0
lamda	-8,1	-8,1	-8,1	-8,1	0	-9,6	-9,6	-9,6	-9,6	0
Neocurdione	-7,4	-7,4	-7,4	-7,4	1,088E-15	-7,9	-7,9	-7,9	-7,9	1,088E-15
Procurcumenol	-7,9	-8	-8	-7,9666667	0,057735	-7,5	-7,5	-7,5	-7,5	0
Zerumbone epoxide	-7,6	-7,6	-7,6	-7,6	1,088E-15	-8,3	-8,3	-8,3	-8,3	0
Zerumin A	-8,1	-8,2	-8,1	-8,1333333	0,057735	-9,7	-9,7	-9,7	-9,7	0
RMSD Native	0,245	0,295	0,225	0,255	0,0360555	0,663	0,633	0,666	0,654	0,0182483
Native Ligand	-8,7	-8,7	-8,7	-8,7	0	-11,1	-11,1	-11,1	-11,1	0
Kontrol negatif Kafein	-5,4	-5,4	-5,4	-5,4	1,088E-15	-6,5	-6,6	-6,5	-6,5333333	0,057735

Senyawa	ESR1					HSP90A				
	3ERT		Rata-rata	STD		3QDD		Rata-rata	STD	
Alismol	-8,2	-8,2	-8,2	-8,2	0	-8,1	-8,1	-8,1	-8,1	0
Calcaratarin A	-7,3	-7,2	-7,2	-7,2333333	0,057735	-8,3	-8,3	-8,3	-8,3	0
Curcumanolide A	-7,6	-7,6	-7,6	-7,6	1,088E-15	-7,3	-7,3	-7,3	-7,3	0
Curcumenol	-7,9	-7,9	-7,9	-7,9	1,088E-15	-7,1	-7,1	-7,2	-7,1333333	0,057735
Curcumenone	-7,5	-7,5	-7,5	-7,5	0	-7,4	-7,3	-7,4	-7,3666667	0,057735
Curcuzedoalide	-7,6	-7,6	-7,6	-7,6	1,088E-15	-6,9	-7,1	-6,9	-6,9666667	0,1154701
Curzerenone	-7,3	-7,3	-7,3	-7,3	0	-6,5	-6,5	-6,6	-6,5333333	0,057735
Dehydrocurdione	-7,4	-7,5	-7,5	-7,4666667	0,057735	-6,8	-6,8	-6,8	-6,8	0
Furanodiene	-8,2	-8,2	-8,2	-8,2	0	-7,5	-7,5	-7,5	-7,5	0
Germacrone	-7,8	-7,8	-7,8	-7,8	0	-6,5	-6,6	-6,6	-6,5666667	0,057735
Germacrone-1,10-epoxide	-8	-8	-8	-8	0	-6,8	-6,7	-6,8	-6,7666667	0,057735
Germacrone-4,5-epoxide	-7,9	-8	-8	-7,9666667	0,057735	-6,7	-6,7	-6,7	-6,7	0
Gweicurculactone	-8,3	-8,3	-8,3	-8,3	0	-10,4	-10,5	-10,4	-10,4333333	0,057735
Isoprocucumenol	-7,8	-7,8	-7,8	-7,8	0	-6,8	-6,8	-6,8	-6,8	0
lamda	-9,4	-9,4	-9,4	-9,4	0	-7,9	-7,9	-7,9	-7,9	1,088E-15
Neocurdione	-8,6	-8,6	-8,6	-8,6	0	-6,8	-6,7	-6,8	-6,7666667	0,057735
Procurcumenol	-8,3	-8,4	-8,3	-8,3333333	0,057735	-8,6	-8,6	-8,6	-8,6	0
Zerumbone epoxide	-8,6	-8,6	-8,6	-8,6	0	-7,3	-7,3	-7,3	-7,3	0
Zerumin A	-7,2	-7,2	-7,2	-7,2	0	-8,3	-8,4	-8,4	-8,3666667	0,057735
RMSD Native	1,787	1,356	1,411	1,518	0,2345783	0,289	0,275	0,289	0,2843333	0,0080829
Native Ligand	-9,7	-9,7	-8,5	-9,3	0,6928203	-8,7	-8,8	-8,7	-8,7333333	0,057735
Kontrol negatif Kafein	-5,9	-5,9	-5,9	-5,9	1,088E-15	-6,2	-6,3	-6,3	-6,2666667	0,057735

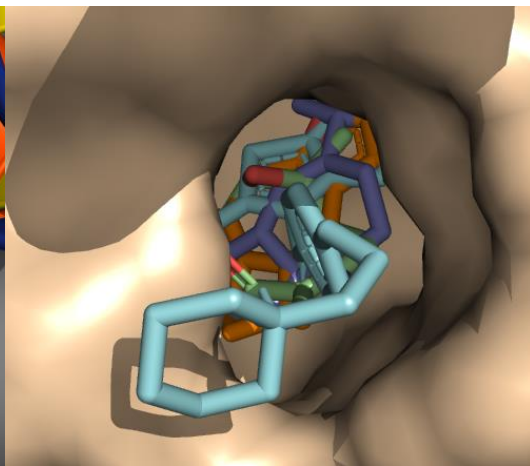
Senyawa	MEK1					SRC				
	4ANB		Rata-rata		STD	4MXX		Rata-rata		STD
Alismol	-7,8	-7,8	-7,8	-7,8	0	-7,1	-7,1	-7,1	-7,1	1,088E-15
Calcaratarin A	-8	-8	-8	-8	0	-7,1	-7,4	-7,3	-7,2666667	0,1527525
Curcumanolide A	-7	-7	-7	-7	0	-6,9	-6,9	-6,9	-6,9	1,088E-15
Curcumenol	-8	-8	-8	-8	0	-7,1	-7	-7,1	-7,0666667	0,057735
Curcumenone	-7,1	-7,1	-7,1	-7,1	1,088E-15	-7,4	-7,5	-7,4	-7,4333333	0,057735
Curcuzedoalide	-7,2	-7,2	-7,2	-7,2	0	-6,8	-6,9	-6,9	-6,8666667	0,057735
Curzerenone	-6,6	-6,6	-6,6	-6,6	1,088E-15	-6,2	-6,2	-6,2	-6,2	0
Dehydrocurdione	-7,1	-7,1	-7,1	-7,1	1,088E-15	-7	-7,1	-7	-7,0333333	0,057735
Furanodiene	-7,1	-7,1	-7,1	-7,1	1,088E-15	-7,4	-7,4	-7,4	-7,4	1,088E-15
Germacrone	-6,8	-6,8	-6,8	-6,8	0	-6,7	-6,8	-6,7	-6,7333333	0,057735
Germacrone-1,10-epoxide	-7,4	-7,4	-7,4	-7,4	1,088E-15	-6,7	-6,7	-6,7	-6,7	0
Germacrone-4,5-epoxide	-7,2	-7,2	-7,2	-7,2	0	-6,5	-6,5	-6,5	-6,5	0
Gweicurculactone	-8,9	-8,9	-8,9	-8,9	0	-8,3	-8,3	-8,3	-8,3	0
Isoprocucumenol	-7,4	-7,4	-7,4	-7,4	1,088E-15	-7,2	-7,3	-7,2	-7,2333333	0,057735
lamda	-9	-9	-9	-9	0	-7,7	-7,7	-7,7	-7,7	0
Neocurdione	-7,4	-7,4	-7,4	-7,4	1,088E-15	-7,3	-7,4	-7,3	-7,3333333	0,057735
Procurcumenol	-7,4	-7,4	-7,4	-7,4	1,088E-15	-7,2	-7,3	-7,2	-7,2333333	0,057735
Zerumbone epoxide	-7,6	-7,6	-7,6	-7,6	1,088E-15	-7	-7	-7	-7	0
Zerumin A	-8,2	-8,2	-8,2	-8,2	0	-7,4	-7,7	-7,3	-7,4666667	0,2081666
RMSD Native	0,372	0,367	0,372	0,3703333	0,0028868	1,278	1,303	1,041	1,2073333	0,1445902
Native Ligand	-10,2	-10,2	-10,2	-10,2	0	-8,3	-8,3	-8,3	-8,3	0
Kontrol negatif Kafein	-6,1	-6,1	-6,1	-6,1	1,088E-15	-5,7	-5,6	-5,7	-5,6666667	0,057735

Senyawa	PGR					PIK3				
	4OAR		Rata-rata		STD	5ITD		Rata-rata		STD
Alismol	-7	-7	-7	-7	0	-7,5	-7,4	-7,5	-7,4666667	0,057735
Calcaratarin A	-7,1	-6,8	-7,4	-7,1	0,3	-7,5	-7,5	-7,5	-7,5	0
Curcumanolide A	-7,1	-7,1	-7,1	-7,1	1,088E-15	-7	-7	-7	-7	0
Curcumenol	-6,9	-7	-6,9	-6,9333333	0,057735	-6,3	-6,3	-6,3	-6,3	0
Curcumenone	-6,9	-6,9	-6,9	-6,9	1,088E-15	-6,8	-6,9	-6,9	-6,8666667	0,057735
Curcuzedoalide	-7,2	-7,3	-7,3	-7,2666667	0,057735	-6,4	-6,4	-6,4	-6,4	1,088E-15
Curzerenone	-6,5	-6,4	-6,5	-6,4666667	0,057735	-6,9	-6,9	-6,9	-6,9	1,088E-15
Dehydrocurdione	-6,6	-6,7	-6,6	-6,6333333	0,057735	-6,1	-6,1	-6,1	-6,1	1,088E-15
Furanodiene	-7	-7	-7	-7	0	-7,5	-7,5	-7,5	-7,5	0
Germacrone	-6,6	-6,6	-6,6	-6,6	1,088E-15	-6,4	-6,4	-6,4	-6,4	1,088E-15
Germacrone-1,10-epoxide	-7,1	-7,1	-7,1	-7,1	1,088E-15	-6,4	-6,4	-6,4	-6,4	1,088E-15
Germacrone-4,5-epoxide	-7,1	-7,1	-7,1	-7,1	1,088E-15	-7	-7	-7	-7	0
Gweicurculactone	-7,5	-7,5	-7,5	-7,5	0	-8,2	-8,2	-8,2	-8,2	0
Isoprocurcumenol	-6,8	-6,8	-6,8	-6,8	0	-6,6	-6,6	-6,4	-6,5333333	0,1154701
lamda	-8,9	-8,9	-8,9	-8,9	0	-8	-8	-8	-8	0
Neocurdione	-7,3	-7,3	-7,3	-7,3	0	-6,6	-6,6	-6,6	-6,6	1,088E-15
Procurcumenol	-6,6	-6,6	-6,6	-6,6	1,088E-15	-7,8	-7,8	-7,8	-7,8	0
Zerumbone epoxide	-7,3	-7,3	-7,3	-7,3	0	-6,5	-6,5	-6,5	-6,5	0
Zerumin A	-7,5	-7,6	-7,5	-7,5333333	0,057735	-7,7	-7,7	-7,7	-7,7	0
RMSD Native	0,084	0,002	0,084	0,0566667	0,0473427	1,485	1,479	1,486	1,4833333	0,0037859
Native Ligand	-10,7	-10,8	-10,8	-10,766667	0,057735	-10,2	-10,2	-10,2	-10,2	0
Kontrol negatif Kafein	-5,5	-5,6	-5,5	-5,5333333	0,057735	-5,3	-5,3	-5,3	-5,3	0

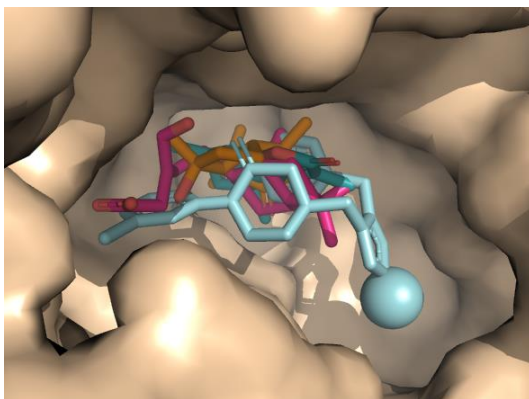
Lampiran 5. *Binding site protein uji*



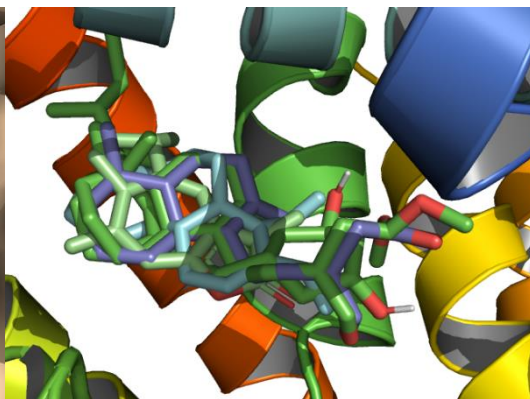
1PXX



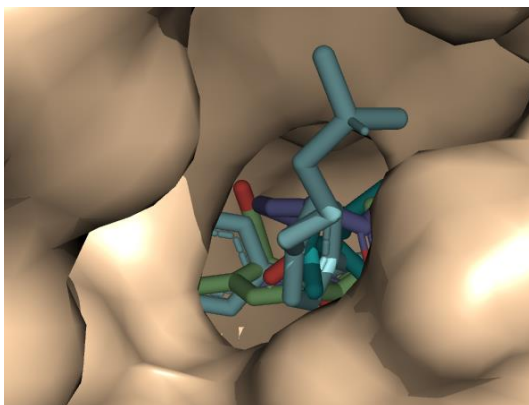
1PQKN



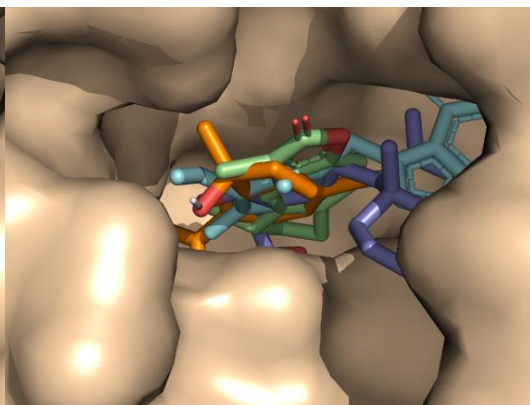
1S63



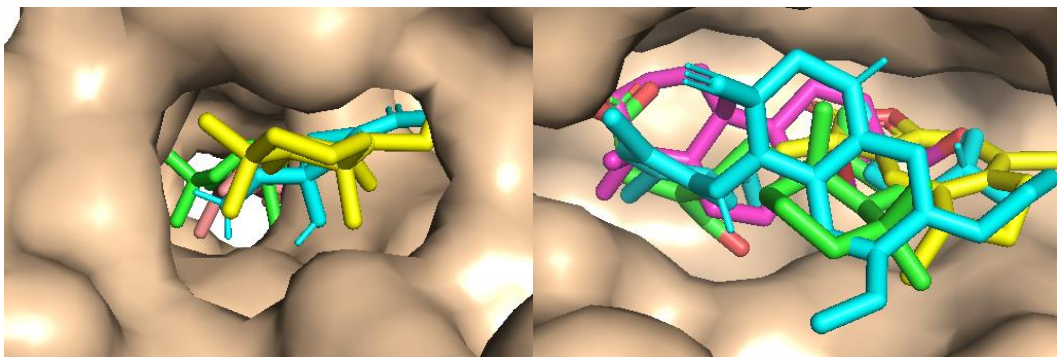
1TXI



3ERT

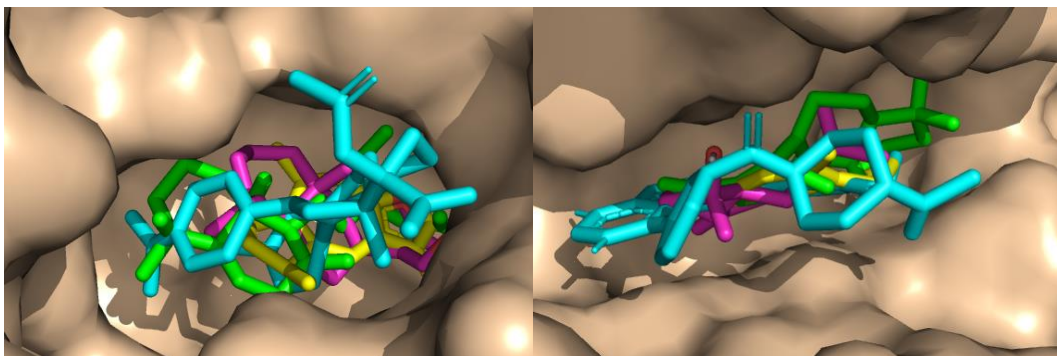


3QDD



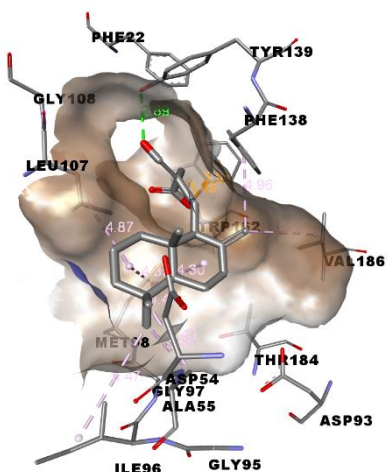
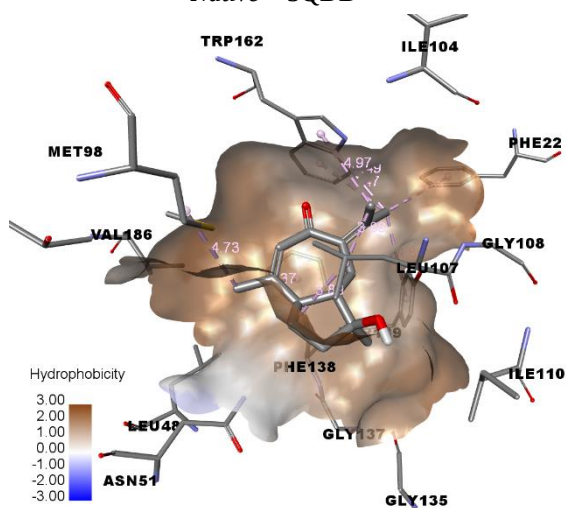
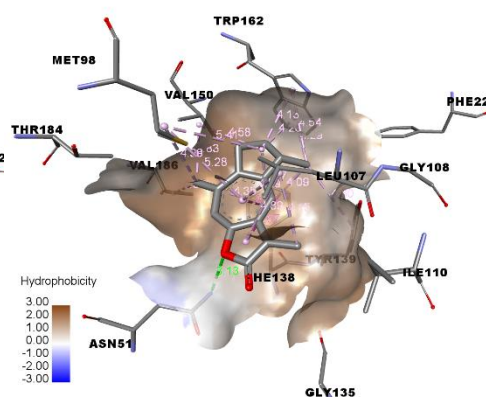
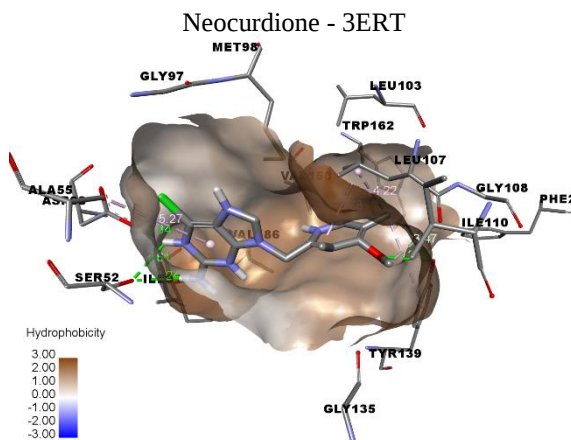
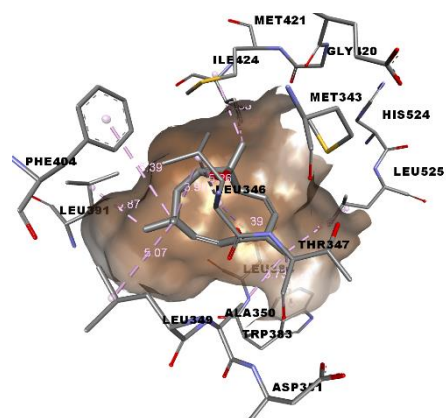
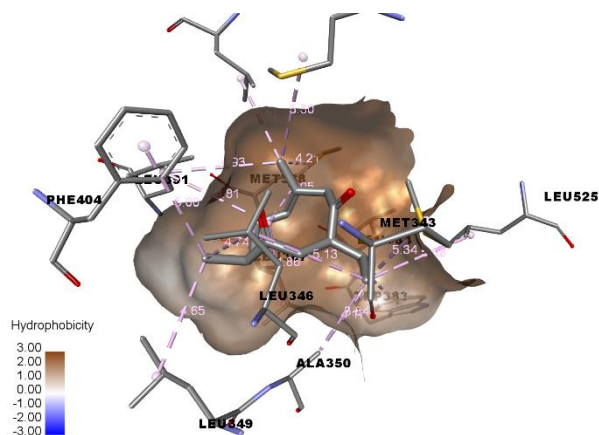
4ANB

4MXX



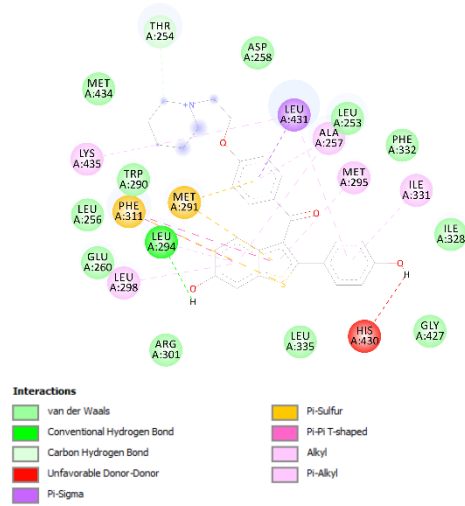
4OAR

5ITD

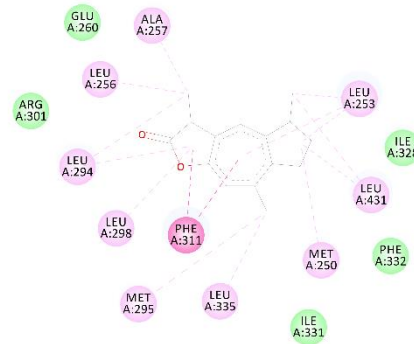


Lampiran 7. Interaksi ligan terbaik dari masing-masing protein

1QKN

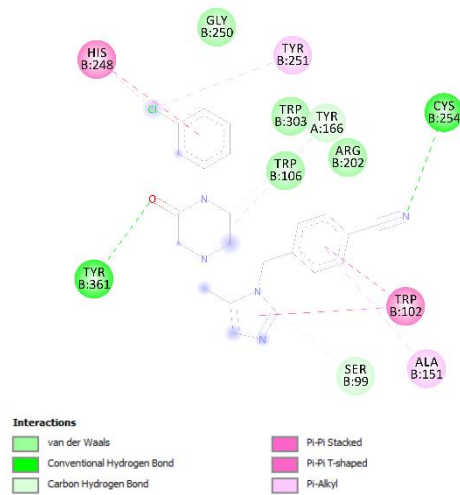


Native

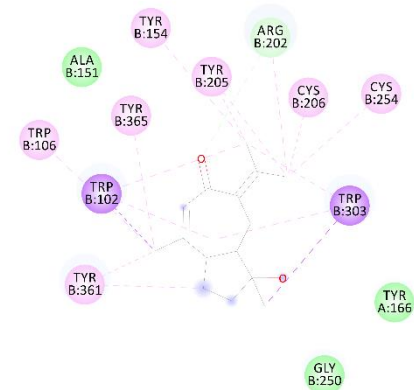


Gweicurculactone

1S63

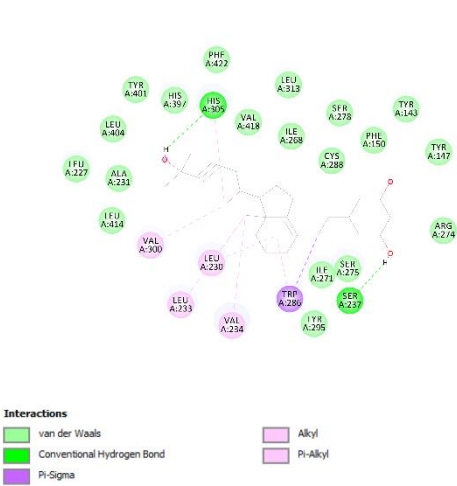


Native

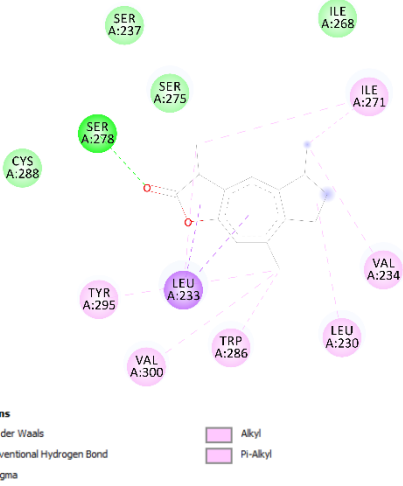


Isoprocurcumenol

1TXI

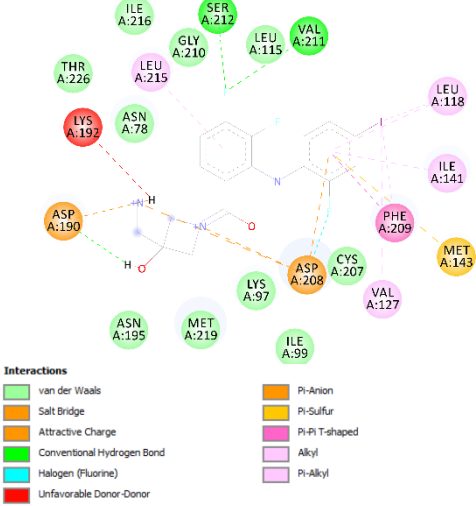


Native

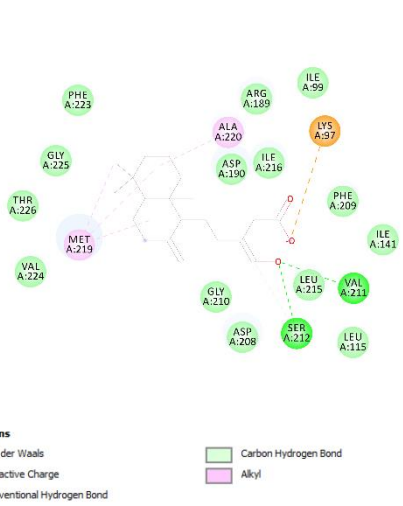


Gweicurculactone

4ANBI

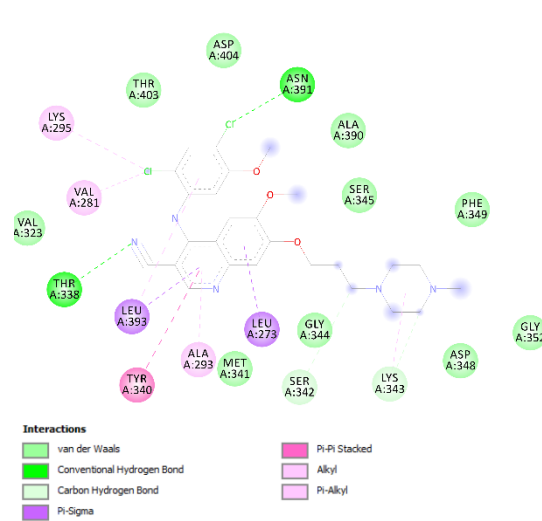


Native

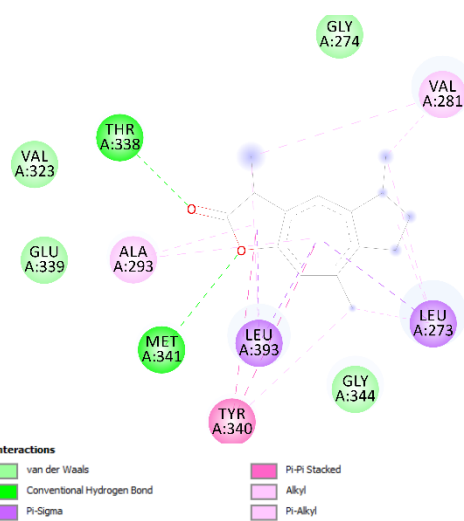


Zerumin A

4MXX

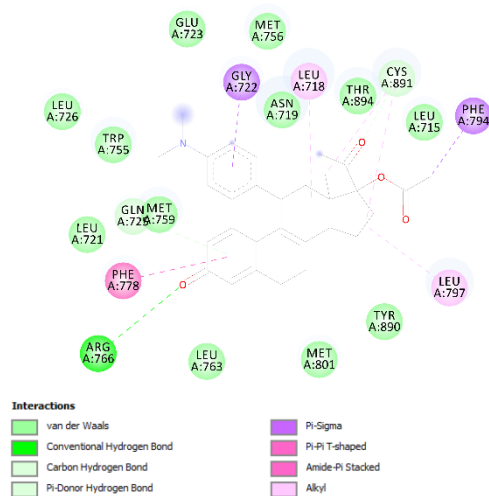


Native

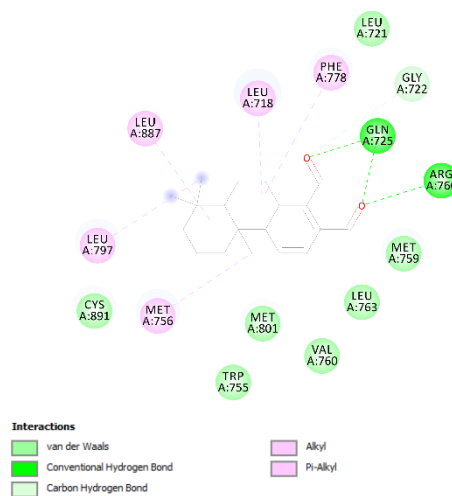


Gweicurculactone

4OAR

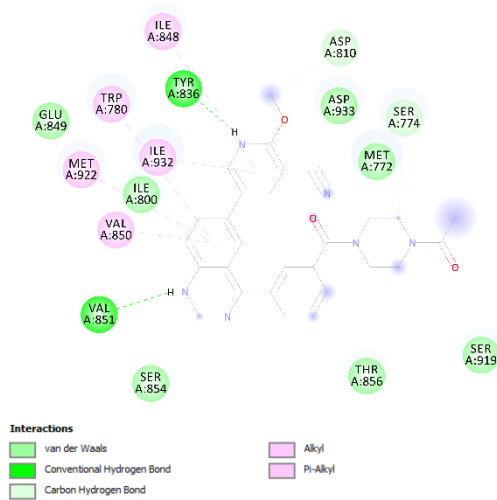


Native

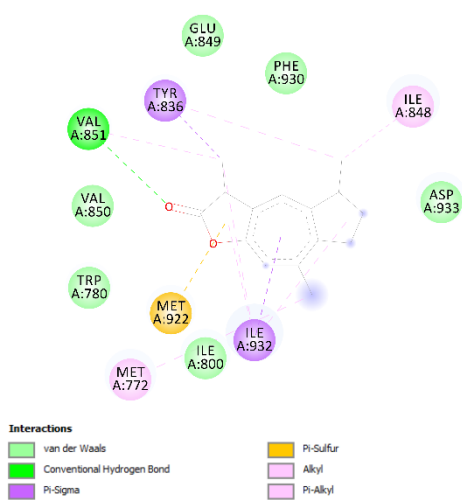


Lamda

5ITD



Native



Gweicurculactone