

Sintesis dan Studi In Silico Senyawa 3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-(((4-Heptylphenyl) Formamido] Methanethiyl) Amino) Propyl] Thiourea Sebagai Kandidat Antikanker

Tamia Febriani Nurjanah, Ruswanto*, Anindita Tri Kusuma Pratita
Program Studi Farmasi, Universitas Bakti Tunas Husada, Tasikmalaya, Indonesia

*Corresponding author: ruswanto@universitas-bth.ac.id

Abstract

Background: Cancer is a deadly disease and the highest cause of death in the world after heart disease. The high number of cancer cases that occur and the many side effects caused by chemotherapy treatment in cancer require development in cancer treatment. **Objective:** This study aims to determine whether the compound 3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-(((4-Heptylphenyl) Formamido] Methanethiyl) Amino) Propyl] Thiourea can be synthesized from 4-Heptilbenzoyl Chloride, KSCN, 1,3-Diaminopropane and to see its interaction with PDK1 receptor. **Methods:** Compounds synthesized by sonication method were characterized then followed by *in silico* studies, pharmacokinetic and toxicity prediction. **Results:** The synthesis results obtained %yield of 87%. Characterization of the synthesized compound is shown by the melting distance of 2° C (79-81° C) and a single stain on the TLC plate, the maximum wavelength of 241 nm, has -NH, C=O, and C=S absorption at wave numbers 3292 cm⁻¹, 1729 cm⁻¹, and 1154 cm⁻¹, and with a molecular weight of 597 g/mol. The results of *in silico* studies showed that the compound 3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-(((4-Heptylphenyl) Formamido] Methanethiyl) Amino) Propyl] Thiourea has a good interaction with the PDK1 receptor (PDB: 5LVO) with a binding affinity value of -6.96 kcal/mol which is lower than the comparator drug Capecitabine, and has a better pharmacokinetic and toxicity profile. **Conclusion:** The results of this study indicate that the compound 3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-(((4-Heptylphenyl) Formamido] Methanethiyl) Amino) Propyl] Thiourea has potential as an anticancer candidate.

Keywords: Synthesis, *In silico* study, Thiourea

Abstrak

Pendahuluan: Kanker merupakan penyakit yang mematikan dan menjadi penyebab kematian tertinggi di dunia setelah penyakit jantung. Tingginya kasus kanker yang terjadi serta banyaknya efek samping yang ditimbulkan dari pengobatan kemoterapi pada kanker maka diperlukan pengembangan dalam pengobatan kanker. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah senyawa 3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-(((4-Heptylphenyl) Formamido] Methanethiyl) Amino) Propyl] Thiourea dapat disintesis dari senyawa 4-Heptilbenzoyl Klorida, KSCN, 1,3-Diaminopropana serta untuk melihat interaksinya dengan reseptor PDK1. **Metode:** Senyawa hasil sintesis dengan metode sonikasi dilakukan karakterisasi kemudian dilanjutkan dengan studi *in silico*, prediksi farmakokinetik dan toksisitas. **Hasil:** Hasil sintesis didapatkan %yield sebesar 87%. Karakterisasi pada senyawa hasil sintesis ditunjukkan dengan jarak lebur 2° C (79-81° C) dan noda tunggal pada hasil KLT, panjang gelombang maksimum sebesar 241 nm, memiliki serapan -NH, C=O, dan C=S pada bilangan gelombang 3292 cm⁻¹, 1729 cm⁻¹, dan 1154 cm⁻¹, serta memiliki berat molekul sebesar 597 g/mol. Hasil studi *in silico* didapatkan bahwa senyawa 3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-(((4-Heptylphenyl) Formamido] Methanethiyl) Amino) Propyl] Thiourea mempunyai interaksi yang baik dengan reseptor PDK1 (PDB: 5LVO) dengan nilai *binding affinity* -6,96 kcal/mol yang lebih rendah daripada obat perbandingan Capecitabine, serta memiliki profil farmakokinetik dan toksisitas yang lebih baik dibandingkan Capecitabine. **Kesimpulan:** Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa senyawa 3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-(((4-Heptylphenyl) Formamido] Methanethiyl) Amino) Propyl] Thiourea berpotensi sebagai kandidat antikanker.

Kata kunci: Sintesis, Studi *in silico*, Thiourea

PENDAHULUAN

Penyakit kanker merupakan salah satu penyakit yang mematikan di dunia. Kanker telah menjadi permasalahan kesehatan terpenting dan penyebab kematian tertinggi di dunia setelah penyakit jantung (Yahya & Alqadhi, 2021). Menurut data dari Global Burden of Cancer Study (GLOBOCAN) pada tahun 2020 kasus kanker di dunia mencapai 19.292.789 kasus pada seluruh usia dan jenis kelamin, dengan angka kematian mencapai 9.958.153 atau sebanyak 51,61% dari total kasus kanker di dunia. Sementara itu, angka kejadian kanker di Indonesia, berdasarkan data GLOBOCAN menunjukkan bahwa jumlah kasus kanker pada tahun 2020 mencapai angka 396.914 kasus. (GLOBOCAN, 2020).

Hingga saat ini, beberapa upaya telah banyak dilakukan dalam pengobatan kanker seperti pembedahan, kemoterapi, hipertermia, dan juga terapi radiasi (Narmani & Jafari, 2021). Salah satu pengobatan kanker yang umum adalah terapi kanker melalui kemoterapi. Namun, pada pengobatan kemoterapi umumnya ada beberapa efek yang sering terjadi seperti rambut yang mengalami kerontokan, mulut kering, diare, mual, muntah, nafsu makan yang menurun dan sering merasakan kelelahan (Ruswanto, et al., 2021). Berdasarkan hal tersebut, peneliti tertarik untuk menemukan obat anti kanker baru yang memiliki aktivitas lebih kuat, selektivitas yang tinggi, serta toksisitas yang rendah dengan cara modifikasi struktur melalui sintesis obat.

Dewasa ini, rancangan obat melalui modifikasi struktur digunakan untuk mengembangkan obat baru dengan aktivitas yang lebih kuat dan toksisitas yang lebih rendah. (Kesuma et al., 2018). Modifikasi struktur dilakukan dengan cara sintesis senyawa, lalu dilakukan juga studi *in silico* untuk memprediksi aktivitas antara senyawa hasil sintesis dengan reseptor. Target antikanker yang tervalidasi dan menjanjikan adalah PDK-1 dan protein kinase-1 yang bergantung pada 3-fosfoinositida. Pada akhirnya, penemuan penghambat PDK1 baru dapat menghasilkan metode pengobatan kanker yang lebih baik (Arguello & Kali S.

Thomas, 2017). Penemuan penghambat PDK1 baru dapat menghasilkan metode pengobatan kanker yang lebih baik (Arguello & Kali S. Thomas, 2017).

Salah satu senyawa yang saat ini sedang dilakukan pengembangan dan dipercaya memiliki aktivitas antikanker adalah turunan senyawa tiourea. Tiourea adalah senyawa yang terdiri dari nitrogen dan sulfur, dan banyak digunakan dalam penelitian sebagai antikanker (Ruswanto, et al., 2022). Penelitian penemuan obat baru banyak dilakukan dari turunan senyawa thiourea sebagai antikanker, anti-tuberculosis, antimalaria, dan antimikroba (Ruswanto et al., 2021). Pada penelitian sebelumnya, Ruswanto, et al., (2021) melakukan penelitian studi *in silico* turunan senyawa tiourea, hasil yang diperoleh yaitu 1-(3-klorobenzoil) - 3-metiltiourea (C-3) memiliki energi ikat dan afinitas tertinggi dibandingkan dengan senyawa uji lainnya dan erlotinib. Purwanto (2018) melakukan penelitian sintesis senyawa N-(2-Klorobenzoil)-N'-Fenilurea dan uji aktivitas antikanker terhadap sel HeLa, dan hasil yang didapatkan yaitu senyawa N-(2-Klorobenzoil)-N'-Fenilurea memiliki aktivitas antikanker lebih tinggi dibanding senyawa hidroksiurea (Purwanto, 2018).

Pada penelitian terbaru, senyawa turunan tiourea dapat disintesis dengan metode sonikasi (Arafa et al., 2022). Penggunaan sumber energi ramah lingkungan seperti teknik ultrasonik berhasil meningkatkan laju reaksi dan hasil dibandingkan dengan metodologi konvensional (Arafa et al., 2022). Dalam proses sintesis juga digunakan 1,3-Diaminopropana yang termasuk ke dalam senyawa poliamina. Poliamina dapat berperan sebagai target terapi antikanker dan memfasilitasi pengembangan inhibitor yang menargetkan biosintesis dan transportasi poliamina (Sari et al., 2021). Pada tahun 2020, Ploskonos et al. melakukan penelitian mengenai efek senyawa analog poliamina terhadap kanker prostat FGC klon sel LNCaP. Hasil yang didapatkan yaitu senyawa poliamina dapat menghambat pertumbuhan sel kanker prostat LNCaP. (Ploskonos et al., 2020).

Pada penelitian ini akan dilakukan sintesis senyawa dengan mereaksikan 4-Heptilbenzoil Klorida dengan KSCN dan 1,3-Diaminopropana, sehingga akan dihasilkan senyawa *3-(4-heptylbenzoyl)-1-[3-((4-heptylphenyl)formamido)methanethioyl]amino propyl]thiourea* yang diharapkan mempunyai aktivitas antikanker, sifat toksisitas yang rendah, dan memiliki profil farmakokinetik yang baik sehingga dapat dijadikan sebagai kandidat antikanker. Kemudian senyawa hasil sintesis akan dikarakterisasi dan dilakukan studi *in silico*.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Penelitian ini menggunakan bahan-bahan diantaranya, senyawa 4-Heptilbenzoil Klorida, 1,3-Diaminopropana, KSCN (kalium tiosianat), NaHCO₃ (natrium bikarbonat), asetonitril, DMSO (dimetil sulfoksida), silika GF254, etil asetat, etanol, n-heksan, ligan *3-(4-heptylbenzoyl)-1-[3-((4-heptylphenyl)formamido)methanethioyl]amino propyl]thiourea* serta reseptor kanker 3-Phosphoinositide Dependent Kinase-1 (PDK1) dengan kode (PDB: 5LVO dan 3HRF).

Alat

Penelitian ini menggunakan alat-alat diantaranya, neraca analitik (Mettler Toledo), gelas kimia (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), kaca arloji, spatula logam, pipet kaca, labu ukur (Pyrex), kuvet, cawan uap, Sonikator, *Hot-stage Microscopy*, Spektrofotometer UV-Vis (Agilent Cary 60 UV-VIS), Spektrofotometer IR, Spektrometri Massa, serta *software* dan *hardware* yang digunakan pada studi *in silico* seperti Laptop Lenovo 1TFVPT8B Processor Intel(R) Core(TM) i3-1215U (8 CPUs) @ 1.2GHz RAM 8.00 GB, Protein Data Bank (PDB), Marvin Sketch 23.13, Discovery Studio 2021, Molegro Molecular Viewer, Autodock Tools 1.5.7., Desmond, pkCSM, dan Protocx.

Metode

Sintesis Senyawa

Prosedur sintesis dilakukan dengan cara mereaksikan senyawa 4-Heptilbenzoil klorida sebanyak 0,285 mL dan KSCN 0,116 gram

yang dilarutkan dengan pelarut asetonitril sebanyak 20 mL, lalu dilakukan proses sonikasi selama 15 menit pada suhu 50° C. Kemudian ditambahkan 1,3-Diaminopropana sebanyak 0,1 mL ke dalam campuran larutan yang telah disonikasi dan dilanjutkan sonikasi kembali selama 30 menit hingga selesai. Setelah selesai sonikasi, pelarut yang tersisa kemudian dihilangkan menggunakan vakum, kemudian massa padatan yang tersisa dicuci dengan Natrium Bikarbonat 10%. Setelah itu dilakukan rekristalisasi menggunakan etanol panas yang dimasukkan sedikit demi sedikit kedalam padatan hasil sintesis yang diletakkan di atas hot plate dengan suhu 78° C sehingga terbentuk sebagai senyawa hasil sintesis. (Arafa et al., 2022).

Hot Stage Microscopy (HSM)

Sampel senyawa hasil sintesis dalam *hot stage*, lalu secara bertahap suhu dinaikkan sampai konstan. Proses peleburan diamati dengan mikroskop polarisasi yang tersambung dengan komputer (Ruswanto et al., 2021).

Uji Kemurnian Senyawa

Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Fase diam menggunakan silika GF254 dan fase gerak yaitu etanol : n-heksan (3:2) dan etanol : etil asetat (3:1). Dilakukan elusi pada senyawa, kemudian dikeringkan dan noda hasil elusi dilihat menggunakan lampu UV 254 nm kemudian nilai R_f-nya dihitung (Ruswanto, 2015).

Karakterisasi Senyawa

Spektrofotometri UV-Vis

Digunakan spektrofotometer UV-Vis untuk mengukur panjang gelombang maksimum dan absorbansinya pada area panjang gelombang 200 nm – 800 nm (Ruswanto et al., 2019).

Spektrofotometri IR

Senyawa diambil seujung spatel kira-kira sampai menutupi detektor FT IR, kemudian dimasukkan ke dalam alat spektrofotometer IR dan spektrumnya diukur pada bilangan gelombang 4000 – 650 nm⁻¹ kemudian dianalisis. (Ruswanto et al., 2021).

Spektrometri Massa

Pengujian dilakukan dengan menyiapkan sampel senyawa hasil sintesis dan 1 ml DMSO, kemudian sampel dilarutkan dan dimasukkan ke dalam spektrometri massa dan akan mengalami penguapan, lalu sinar elektron dengan energi 70 volt ditembakkan kemudian akan diperoleh spektrum m/z yang kemudian hasilnya dianalisis.

Analisis Reseptor

Reseptor target yang akan digunakan diunduh melalui situs Protein Data Bank (PDB) (<https://www.rcsb.org/pdb>) dengan menggunakan format .pdb. Kemudian dilakukan analisis protein untuk melihat kualitas reseptor melalui website PDBsum (<https://www.ebi.ac.uk/pdbsum/>), reseptor target dinyatakan cocok untuk melanjutkan ke tahap *docking* apabila memiliki resolusi <2 Å, dengan *disallowed regions* <0,8%, dan *most favoured regions* >90% seperti yang tercantum pada plot Ramachandran (Khasanah et al., 2023).

Preparasi Reseptor

Reseptor target 5LVO dan 3HRF yang telah diunduh melalui *website* Protein Data Bank (PDB) selanjutnya dilakukan preparasi menggunakan software Molegro Molecular Viewer. Selanjutnya, proses preparasi dimulai dengan memisahkan reseptor dari ikatan alaminya, menambahkan atom hidrogen, dan mengeluarkan molekul air.. Reseptor hasil preparasi kemudian disimpan dalam bentuk .pdb (Ruswanto et al., 2022).

Preparasi Senyawa

Senyawa hasil sintesis digambar menggunakan aplikasi Marvin Sketch. kemudian diprotonasi untuk menghasilkan pH 7,4 yang sesuai dengan pH darah, lalu file disimpan dalam bentuk .mrv. Senyawa hasil protonasi kemudian dilakukan konformasi struktur agar senyawa stabil dengan pengaturan MMFF94 (*Merck Molecular Force Field 94*) atau berbasis meminimalisasi energi pada metode *force field*). Kemudian hasil yang diperoleh disimpan dalam bentuk .pdb (Ruswanto et al., 2022).

Validasi Metode Docking

Validasi metode *docking* dilakukan dengan cara menambatkan ulang ligan alami yang telah dipisahkan dengan reseptornya menggunakan *software* Autodock Tools 1.5.7 dengan ukuran *gridbox* 40 x 40 x 40 Å. Validasi dikatakan baik apabila nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) sebagai parameter validasi yang diperoleh ≤ 2 Å (Ruswanto et al., 2022).

Docking Senyawa Uji

AutodockTools-1.5.7. digunakan untuk proses *docking* pada senyawa uji yang telah divalidasi dan diatur *gridbox*-nya. *Lamarckian Genetic Algorithm* (LGA) dipilih dalam penambatan molekul, dengan jumlah GA run 100 kali. Hasil yang didapatkan berupa *binding affinity* (ΔG) dari senyawa atau ligan (Ruswanto et al., 2020).

Visualisasi Hasil Docking

Senyawa dan reseptor hasil *docking* kemudian disimpan dalam bentuk .pdb. Kemudian dianalisis interaksi reseptor dengan ligan menggunakan perangkat lunak Discover Studio dengan bentuk 2D dan 3D.

Molecular Dynamic

Senyawa terbaik hasil *docking* dilakukan simulasi *molecular dynamic* menggunakan *software* Desmond. Digunakan model air TIP3P dan 0,15 M NaCl untuk meniru konsentrasi fisiologis. Selama 100 ps dilakukan minimalisasi energi, kemudian simulasi *molecular dynamic* dilakukan pada 300° K selama 100 ns pada tekanan standar (1,01325 bar) dalam kotak ortorombik dengan penyangga dimensi 10 Å 10 Å 10 Å dan ansambel NPT. Kompleks protein-ligan kemudian dilakukan netralisasi dengan penambahan ion Na⁺ dan Cl⁻ guna menyeimbangkan sistem muatan bersih yang disimulasikan oleh MD. Digunakan rantai *Nose-Hoover* dan algoritma *Martyna-Tobias-Klein* guna mempertahankan suhu semua sistem MD pada 300° K dan tekanan pada 1,01325 bar (Ruswanto, et al., 2022).

Prediksi Farmakokinetik dan Toksisitas

Untuk melihat prediksi farmakokinetik dan toksisitas pada senyawa dilakukan pengujian

menggunakan website pkCSM (<https://biosig.unimelb.edu.au/pkcsml/>). Website pkCSM digunakan untuk mendapatkan prediksi aktivitas farmakokinetik dan toksisitas dari suatu senyawa (Akbar et al., 2022).

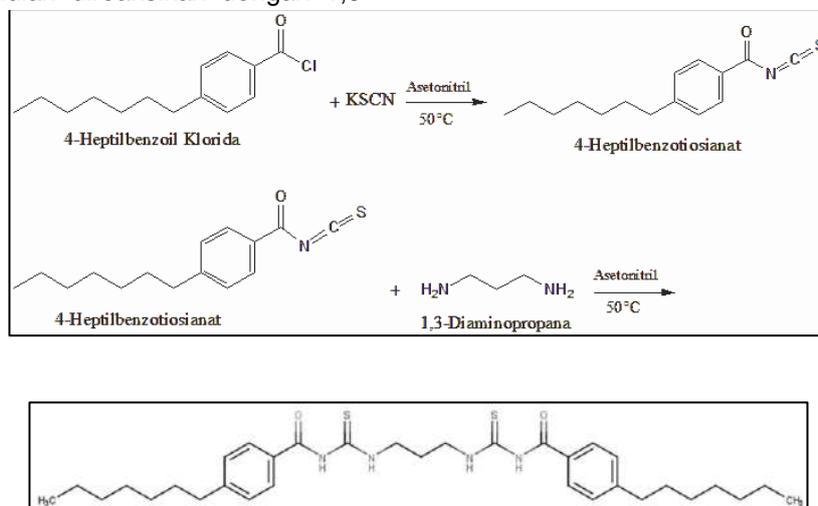
HASIL DAN PEMBAHASAN

Sintesis Senyawa

Sintesis senyawa 3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-((4-Heptylphenyl) Formamido) Methanethioly] Amino) Propyl] Thiourea dilakukan dengan metode sonikasi. Reaksi yang terjadi antara 4-Heptilbenzoil Klorida dengan Kalium Tiosianat merupakan reaksi substitusi nukleofilik (Wade, 2013). Gugus klorida (Cl) pada 4-Heptilbenzoil Klorida akan disubstitusi oleh gugus tiosianat (-SCN). Pada reaksi ini, ion tiosianat (-SCN) dari Kalium Tiosianat bertindak sebagai nukleofil yang menyerang gugus karbonil (C=O) yang terikat pada satu substituen Cl dari 4-Heptilbenzoil Klorida. Produk reaksi berupa senyawa 4-Heptilbenzotiosianat yang mempunyai gugus fungsi isotiosianat (N=C=S) yang terikat pada cincin benzoil.

Senyawa 4-Heptilbenzotiosianat yang sudah terbentuk kemudian direaksikan dengan 1,3-

Diaminopropana. Reaksi antara 4-Heptilbenzotiosianat dan 1,3-Diaminopropana adalah reaksi antara suatu gugus isotiosianat dengan amina. Isotiosianat (R-N=C=S) dapat bereaksi dengan amina (-NH) untuk membentuk tiourea. Secara spesifik, 4-Heptilbenzotiosianat akan bereaksi dengan 1,3-Diaminopropana untuk membentuk produk thiourea yang disubstitusi dua kali karena adanya dua gugus amina (-NH) pada 1,3-Diaminopropana. Produk akhirnya adalah kedua ujung dari 1,3-Diaminopropana berikatan dengan 4-Heptilbenzotiosianat membentuk struktur tiourea, sehingga didapatkan senyawa 3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-((4-Heptylphenyl) Formamido) Methanethioly] Amino) Propyl] Thiourea. Hasil sintesis senyawa diperoleh senyawa berwarna putih, larut dalam asetonitril dan DMSO, serta memiliki %yield sebesar 87%. **Gambar 1** merupakan proses reaksi pembentukan senyawa 3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-((4-Heptylphenyl) Formamido) Methanethioly] Amino) Propyl] Thiourea.



1-[3-((4-Heptylphenyl)Formamido)Methanethioly]Amino)Propyl]Thiourea

Gambar 1. Reaksi Pembentukan Senyawa 3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-((4-Heptylphenyl) Formamido)Methanethioly]Amino) Propyl] Thiourea

Uji Kemurnian Senyawa

Pada uji kemurnian menggunakan *Hot Stage Microscopy* dilakukan dengan cara melihat jarak lebur senyawa dari sebelum melebur hingga melebur sempurna. Senyawa dikatakan murni jika mempunyai jarak lebur kurang dari 2 °C (Ruswanto, Trisna, et al., 2021). Rentang lebur yang lebih kecil pada senyawa

menunjukkan bahwa senyawa tersebut murni, sedangkan rentang lebur yang lebih besar menunjukkan bahwa senyawa tersebut masih mengandung zat lain atau pengotor yang tercampur di dalamnya (Ruswanto & Nugraha, 2015). **Tabel 1** menunjukkan hasil titik lebur senyawa sintesis dengan senyawa awal.

Tabel 1. Hasil uji kemurnian senyawa

Senyawa	Jarak lebur (° C)	Titik Lebur (° C)
3-(4-Heptylbenzoyl)-1- [3-((4-Heptylphenyl) Formamido] Methanethioly] Amino) Propyl] Thiourea	2	79-81
KSCN	2	247-249

Uji kemurnian selanjutnya dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis. Digunakan campuran eluen untuk menghasilkan noda tunggal pada plat. Analisis kemurnian menggunakan metode KLT dilihat dari noda yang dihasilkan pada plat, senyawa dikatakan murni jika menghasilkan noda yang tunggal pada plat (Ruswanto & Nugraha, 2015).

Senyawa hasil sintesis menunjukkan noda tunggal serta memiliki nilai Rf yang berbeda dengan senyawa pembanding (senyawa awal), hal ini menunjukkan bahwa senyawa telah berhasil disintesis berdasarkan uji kemurnian KLT. Hasil uji kemurnian senyawa dengan KLT dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Hasil uji kemurnian senyawa dengan KLT

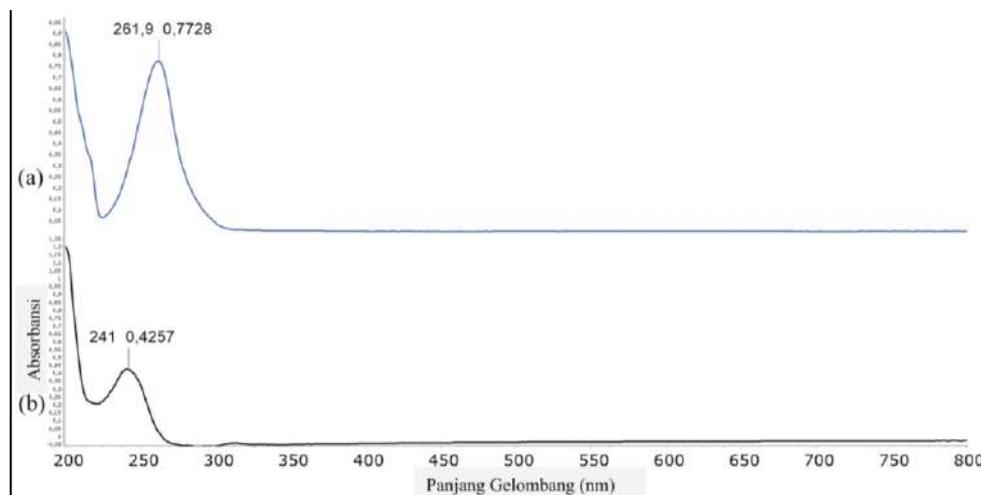
Eluen	Senyawa	Nilai Rf	Jumlah Noda
Etanol : N- heksan (3:2)	4-Heptilbenzoil klorida	0,725	1
	KSCN	0,825	1
	1,3-Diaminopropana	0,3	1
	3-(4-Heptylbenzoyl)-1- [3-((4-Heptylphenyl) Formamido] Methanethioly] Amino) Propyl] Thiourea	0,575	1
Etanol : Etil asetat (3:1)	4-Heptilbenzoil klorida	0,6	1
	KSCN	0,7	1
	1,3-Diaminopropana	0,475	1
	3-(4-Heptylbenzoyl)-1- [3-((4-Heptylphenyl) Formamido] Methanethioly] Amino) Propyl] Thiourea	0,75	1

Karakterisasi Senyawa

Karakterisasi senyawa dilakukan menggunakan instrumen Spektrofotometri UV-

Vis, yang bertujuan untuk menentukan panjang gelombang maksimum dan juga pergeseran dari senyawa hasil sintesis terhadap senyawa

awalnya. **Gambar 2** merupakan spektrum UV-Vis senyawa awal dan senyawa hasil sintesis.



Gambar 2. Spektrum senyawa (a) 4-Heptilbenzoil klorida, (b) senyawa hasil sintesis

Berdasarkan spektrum yang didapatkan dari spektrofotometri UV-Vis, senyawa hasil sintesis yaitu 3-(4-Heptilbenzoil)-1-[3-((4-Heptilphenyl) Formamido) Methanethioyl} Amino) Propyl] Thiourea memiliki panjang gelombang maksimum 241 nm, sedangkan untuk senyawa awal 4-Heptilbenzoil Klorida memiliki

panjang gelombang maksimum 261 nm. Dari hasil yang didapat menunjukkan bahwa senyawa 3-(4-Heptilbenzoil)-1-[3-((4-Heptilphenyl) Formamido) Methanethioyl} Amino) Propyl] Thiourea menunjukkan pergeseran hipsokromik. **Tabel 3** menunjukkan panjang gelombang maksimum dari senyawa menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Tabel 3. Panjang gelombang maksimum Spektrofotometri UV-Vis

Senyawa	Panjang gelombang maksimum (λ_{max})
4-Heptilbenzoil klorida	261 nm
3-(4-Heptilbenzoil)-1-[3-((4-Heptilphenol) Formamido) Methanethioyl} Amino) Propyl] Thiourea	241 nm

Pada senyawa hasil sintesis yaitu 3-(4-Heptilbenzoil)-1-[3-((4-Heptilphenyl) Formamido) Methanethioyl} Amino) Propyl] Thiourea jika dibandingkan dengan senyawa awal 4-Heptilbenzoil Klorida menunjukkan pergeseran hipsokromik karena mengalami pergeseran panjang gelombang maksimum ke arah yang lebih kecil. Pergeseran hipsokromik disebabkan karena adanya gugus kromofor

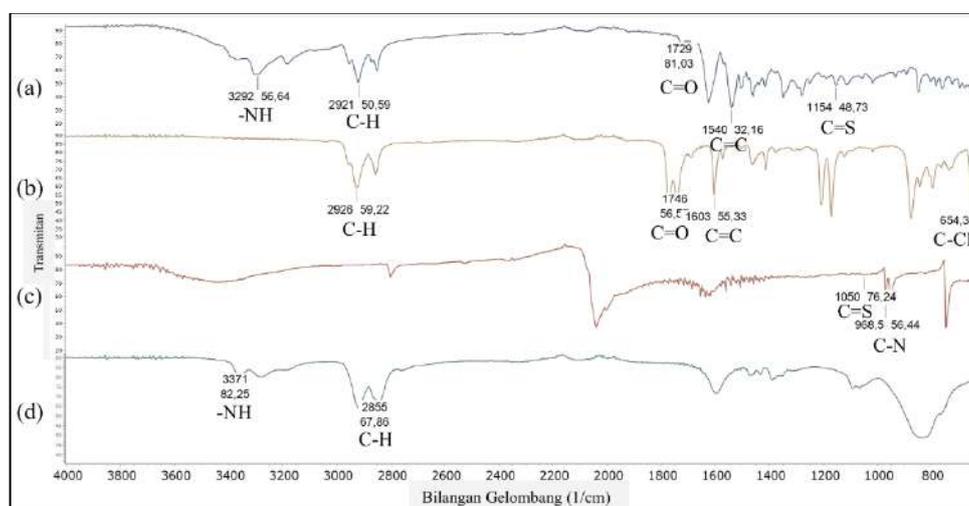
(C=O) dan (C=S) serta gugus ausokrom (-NH) yang terikat pada gugus kromofor (Yualanda et al., 2018). Selain penentuan panjang gelombang maksimum, dihitung juga spektrum elektronik untuk mengetahui adanya transisi elektronik dari senyawa yang telah disintesis. **Tabel 4** menunjukkan nilai absorptivitas molar dan nilai 10 Dq pada senyawa.

Tabel 4. Nilai Absorptivitas Molar dan Nilai 10 Dq

Senyawa	ϵ ($L \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)	10 Dq ($KJ \text{ mol}^{-1}$)
4-Heptilbenzoil klorida	$3,693 \times 10^3$	458.409
3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-((4-Heptylphenyl) Formamido] Methanethioly] Amino) Propyl] Thiourea	$26,562 \times 10^3$	496.452

Selanjutnya, tahapan dikarakterisasi dengan spektrofotometri inframerah. Ini dilakukan dengan tujuan untuk mengidentifikasi gugus fungsi yang ada pada senyawa 3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-((4-Heptylphenyl) Formamido] Methanethioly] Amino) Propyl] Thiourea.

Thiourea. Hasil karakterisasi ini berupa analisis kualitatif yang dapat dijadikan perkiraan gugus fungsi senyawa berdasarkan intensitas spektrum yang dihasilkan. Spektrum gugus fungsi menggunakan FT IR dapat dilihat pada **Gambar 3**.



Gambar 3. Spektrum IR senyawa (a) Senyawa 3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-((4-Heptylphenyl) Formamido]Methanethioly]Amino)Propyl]Thiourea, (b) 4-Heptilbenzoil Klorida, (c) KSCN, (d) 1,3-Diaminopropana

Hasil identifikasi menggunakan spektrofotometri inframerah menunjukkan pada senyawa hasil sintesis dengan senyawa awal terdapat perbedaan spektrum gugus fungsi pada bilangan gelombang yang dihasilkan. Gugus fungsi khas pada senyawa hasil sintesis terdapat gugus fungsi -NH, C=O, dan C=S. Gugus fungsi -NH yang terdapat pada daerah bilangan gelombang 3292 cm^{-1} , dimana gugus ini akan membentuk ikatan hidrogen sehingga mengakibatkan bilangan gelombang dan serapan yang dihasilkan tinggi (Ruswanto, 2018). Untuk gugus fungsi C-H senyawa hasil

sintesis berada pada bilangan gelombang 2921 cm^{-1} . Sementara itu untuk gugus fungsi C=O berada pada 1720 cm^{-1} , gugus fungsi C=C senyawa hasil sintesis berada pada wilayah gelombang 1540 cm^{-1} , untuk daerah serapan vibrasi C=S berada pada bilangan gelombang 1154 cm^{-1} . Perbedaan yang terdapat pada bilangan gelombang senyawa sintesis dengan senyawa awal menunjukkan bahwa senyawa hasil sintesis telah terbentuk. **Tabel 5** menunjukkan hasil spektrum gugus fungsi dengan FTIR.

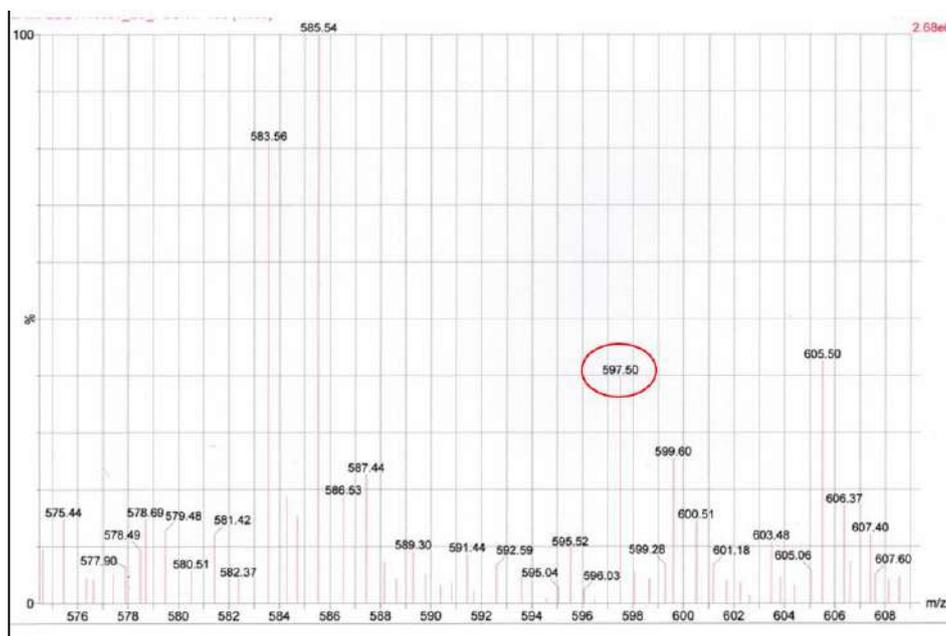
Tabel 5. Hasil spektrum gugus fungsi FTIR

Gugus Fungsi	Referensi (cm ⁻¹)	4-Heptilbenzoiil Klorida	KSCN	1,3-Diamino propana	3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-(((4-Heptylphenyl) Formamido] Methanethioly)Amino)Propyl]Thiourea
-NH	3100-3500	-	-	3371	3292
C-H	2700-3000	2926	-	2855	2921
C=O	1690-1760	1746	-	-	1729
C=C	1475-1600	1603	-	-	1540
C=S	1050-1200	-	1050	-	1154
C-N	800-1300	-	968	-	-
C-Cl	700-800	654	-	-	-

(Wahdaningsih et al., 2022; Ruswanto, 2018; Marselia et al., 2021; Pagarra, 2022)

Karakterisasi senyawa juga dilakukan menggunakan spektrometri massa, yang ditembakkan elektron berupa H, Na, dan K, yang bertujuan untuk mengetahui massa

molekul sebenarnya yang dibandingkan dengan prediksi massa molekul yang diperoleh pada aplikasi Marvin Sketch. Hasil spektrometri massa dapat dilihat pada **Gambar 4**.



Gambar 4. Hasil Spektrometri Massa senyawa 3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-(((4-Heptylphenyl) Formamido]Methanethioly)Amino)Propyl]Thiourea

Berdasarkan **Gambar 4** dapat dilihat bahwa diperoleh massa molekul sebesar 597,50 g/mol dan menunjukkan puncak ion (M+1H) pada senyawa 3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-(((4-Heptylphenyl) Formamido] Methanethioly) Amino) Propyl] Thiourea, dimana hal tersebut

menunjukkan bahwa terdapat fragmen yang teridentifikasi yaitu berupa unsur H yang menambah massa molekul senyawa hasil tersebut tidak jauh berbeda dengan massa molekul dengan prediksi pada aplikasi Marvin Sketch yaitu sebesar 596,32 g/mol.

Studi *In Silico*

Analisis Reseptor

Analisis reseptor dilakukan untuk mengetahui kualitas dari suatu reseptor apakah layak dijadikan sebagai sarana pencarian obat baru. Parameter yang harus diketahui yaitu resolusi suatu reseptor yang diukur dengan satuan Ångström (Å) dalam studi kristalografi sinar-X yang menunjukkan tingkat detail atau kejelasan suatu struktur yang diperoleh. Kualitas struktur bergantung pada resolusi, yang digunakan sebagai standar kebenaran atau referensi untuk mengukur pose *docking* yang berkualitas. Reseptor yang baik memiliki resolusi 1-2 Å (Agrawal et al., 2019). **Tabel 6** menunjukkan hasil analisis reseptor dengan PDB 5LVO dan 3HRF.

Tabel 6. Analisis Reseptor

Analisis	Reseptor	
	5LVO	3HRF
Resolusi	1,09 (Å)	1,90 (Å)
<i>Most favoured regions</i>	91,3%	91,7%
<i>Disallowed regions</i>	0,0%	0,0%

Analisis reseptor juga dilakukan menggunakan *website* PDBsum (<https://www.ebi.ac.uk/thornton-srv/databases/pdbsum/>) untuk mengetahui kualitas dari reseptor protein yang akan digunakan. Biasanya, ukuran umum kualitas yang diperoleh dari plot suatu reseptor adalah persentase residu pada *most favoured regions* yang dibandingkan *disallowed regions*. Dapat dilihat pada **Tabel 6** hasil diagram plot Ramachandran reseptor dengan PDB 5LVO dan PDB 3HRF menunjukkan bahwa reseptor yang dipilih dinyatakan valid dan layak dilanjutkan ke tahap *docking* karena memenuhi syarat dimana suatu reseptor harus memiliki *disallowed regions* <0,8%, dan *most favoured regions* >90% seperti yang tercantum pada plot Ramachandran (Khasanah et al., 2023).

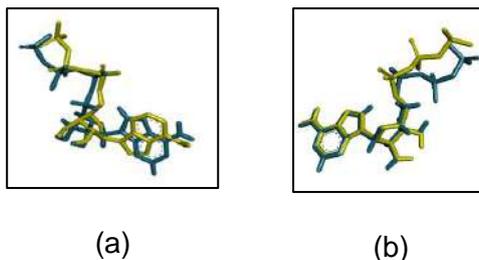
Preparasi Reseptor dan Ligan

Ligan dilakukan preparasi dengan cara menggambar struktur senyawa 3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-({(4-Heptylphenyl) Formamido] Methanethioyl} Amino) Propyl]Thiourea melalui aplikasi MarvinSketch, lalu dilakukan protonasi pada pH 7.4 yang disesuaikan dengan pH darah manusia. Kemudian optimasi geometri dilakukan dengan metode MMFF94 (*Merck Molecular Force Field*) untuk mencapai konformasi molekul yang stabil dengan tingkat energi potensial yang rendah, yang sesuai dengan tubuh manusia (Akbar, N.A., Amin, S., & Wulandari, 2022).

Tahapan selanjutnya dilakukan preparasi reseptor menggunakan aplikasi Molegro Molecular Viewer. Suatu reseptor biasanya terdiri dari protein atau ligan alami, bersama dengan molekul air dan sisa zat lainnya. Oleh karena itu, menghilangkan molekul air selama proses preparasi agar proses *docking* tidak terganggu dan memastikan bahwa protein dan ligan dapat berinteraksi secara optimal (Sari et al., 2020).

Validasi Metode *Docking*

Tujuan validasi metode *docking* adalah untuk memastikan bahwa metode yang digunakan memenuhi persyaratan validitas dan dapat digunakan kembali untuk melakukan penambatan ligan uji dengan reseptor. Parameter yang digunakan dalam validasi yaitu nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD). Metode validasi dikatakan baik jika RMSD yang diperoleh ≤ 2 Å (Ruswanto et al., 2022). **Tabel 7** menunjukkan hasil validasi *docking*. Visualisasi tumpang tindih ligan alami dengan ligan setelah validasi dapat dilihat pada **Gambar 5**.



Gambar 5. Visualisasi tumpang tindih ligan alami (biru) dan ligan setelah validasi (kuning); (a) 5LVO, (b) 3HRF

Tabel 7. Hasil validasi metode *docking*

Kode PDB	Center of Gridbox			Number of Point			RMSD (Å)	Binding of Affinity (kcal/mol)
	x	y	z	x	y	z		
5LVO	-17,803	21,154	-9,019	40	40	40	1,23	-4,77
3HRF	22,166	-22,884	-14,603	40	40	40	1,11	-7,05

Docking Ligan Uji Terhadap Reseptor Target

Docking ligan uji terhadap reseptor target dilakukan menggunakan pengaturan *gridbox* yang sama pada saat proses validasi. Ligan uji yang digunakan yaitu senyawa 3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-({(4-Heptylphenyl)Formamido]Methanethioyl}Amino)Propyl]Thiourea dan pembandingan Capecitabine. Parameter yang harus didapatkan yaitu nilai energi bebas ikatan Gibbs (ΔG) atau *binding affinity*, konstanta inhibisi (K_i), residu, serta ikatan hidrogennya. Nilai energi bebas ikatan

(ΔG) menunjukkan jumlah energi yang dilepas oleh senyawa untuk berinteraksi dan membentuk ikatan dengan reseptor. Nilai yang lebih kecil menunjukkan jumlah energi yang digunakan untuk membentuk ikatan, maka ikatan antara ligan dan reseptor semakin kuat. Sementara itu, nilai K_i suatu senyawa menunjukkan kekuatan hambatannya terhadap reseptornya, nilai yang lebih rendah menunjukkan kekuatan hambatan yang lebih besar (Kelutur et al., 2020). Hasil *docking* dapat dilihat pada **Tabel 8**.

Tabel 8. Hasil *Docking* Ligan Terhadap Reseptor Target

Kode PDB	Senyawa	Binding Affinity (kcal/mol)	Konstanta Inhibisi (μM)
5LVO	Ligan alami	-4,77	88,77
	3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-({(4-Heptylphenyl)Formamido]Methanethioyl}Amino)Propyl]Thiourea	-6,96	7,96
	Capecitabine	-5,27	137,44

3HRF	Ligan alami	-7,05	6,84
	3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-({(4-Heptylphenyl) Formamido]Methanethioyl}Amino) Propyl]Thiourea	-7,09	6,31
	Capecitabine	-5,89	48,17

Berdasarkan hasil *docking* yang didapatkan, dapat dilihat pada **Tabel 8** bahwa senyawa 3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-({(4-Heptylphenyl) Formamido]Methanethioyl}Amino) Propyl]Thiourea memiliki nilai ΔG dan nilai K_i yang lebih kecil dibandingkan dengan obat pembanding Capecitabine pada reseptor 5LVO dan 3HRF, sehingga senyawa hasil sintesis memiliki potensi sebagai kandidat obat antikanker. Hasil *docking* terbaik harus dilanjutkan pada tahap *molecular dynamic* untuk melihat kestabilan ikatan ligan dengan reseptor.

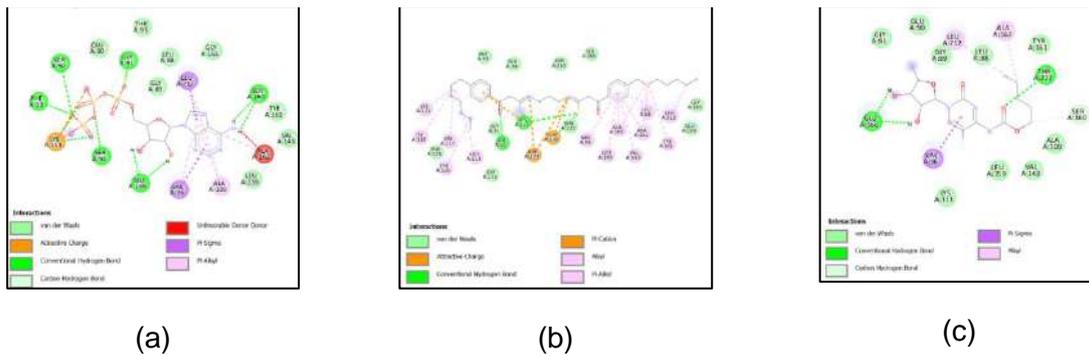
Visualisasi Hasil *Docking*

Tujuan visualisasi hasil *docking* adalah untuk melihat bagaimana ikatan antara ligan uji dan residu asam amino berinteraksi. Proses visualisasi ini dilakukan menggunakan aplikasi Discovery Studio 2021, interaksi yang diamati yaitu berupa ikatan hidrogen dan ikatan hidrofobik.

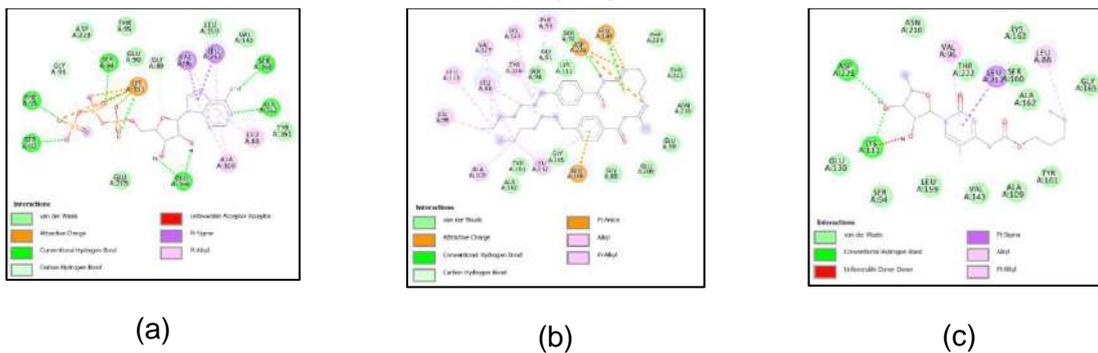
Ikatan molekul yang terbentuk antara atom H dan atom elektronegatif dikenal sebagai ikatan hidrogen. Karena ikatan hidrogen mempengaruhi kestabilan struktur protein, ikatan hidrogen memainkan peran penting dalam struktur protein. (Suryani et al., 2018). Dalam situasi di mana terbentuk ikatan hidrogen yang cukup banyak, hubungan kompleks antara ligan dan reseptor dapat dianggap cukup stabil. (Hermansyah et al., 2022). Disamping itu, terdapat juga ikatan hidrofobik. Interaksi hidrofobik berkumpul di bagian struktur globular protein dan menjauh dari lingkungan cair untuk menghindari interaksi dengan air. Ini dapat merusak struktur

protein dan menghentikan enzim bekerja (Imanudin et al., 2022).

Interaksi yang terjadi antara senyawa 3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-({(4-Heptylphenyl) Formamido]Methanethioyl}Amino) Propyl]Thiourea, ligan alami, dan pembanding Capecitabine dengan reseptor PDB: 5LVO memiliki 8 interaksi yang sama (LEU A:212, TYR A:161, LEU A:88, ALA A:162, VAL A:143, ALA A:109, LEU A:159, VAL A:96). Sedangkan pada reseptor PDB 3HRF, interaksi residu yang sama antara senyawa 3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-({(4-Heptylphenyl) Formamido]Methanethioyl}Amino) Propyl]Thiourea, ligan alami, dan pembanding Capecitabine terdapat 4 interaksi residu yang sama (VAL A:96, LEU A:212, ALA A:109, LEU A:88). Adanya ikatan yang sama antara senyawa uji, ligan alami, dan pembanding menunjukkan bahwa senyawa menempati sisi aktif atau *binding site* yang sama pada reseptor (Prasetiawati et al., 2021). Banyaknya residu asam amino yang terbentuk, seperti ikatan hidrogen dan ikatan hidrofobik menunjukkan bahwa interaksi kompleks ligan dan reseptor dapat dianggap cukup kuat (Prasetiawati et al., 2021). **Gambar 6** dan **Gambar 7** merupakan visualisasi 2D hasil *docking* antara ligan alami, ligan uji, dengan Capecitabine dengan reseptor PDB 5LVO dan 3HRF.



Gambar 6. Visualisasi 2D hasil *docking* (a) ligan alami, (b) ligan uji, (c) Capecitabine pada reseptor PDB 5LVO

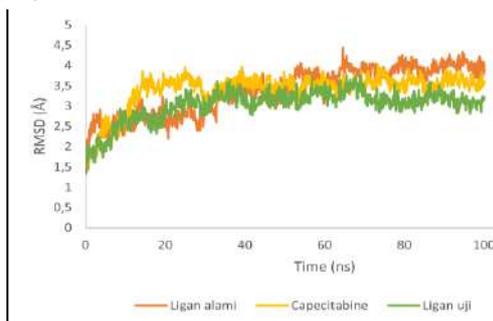


Gambar 7. Visualisasi 2D hasil *docking* (a) ligan alami, (b) ligan uji, (c) Capecitabine pada reseptor PDB 3HRF

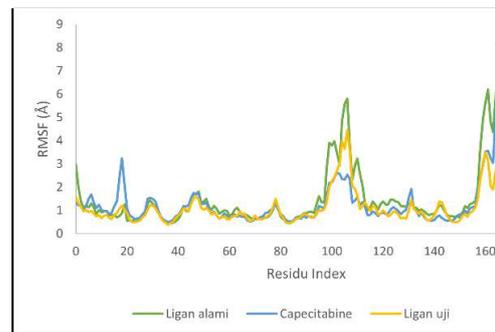
Molecular dynamic

Untuk mengetahui kestabilan interaksi antara ikatan-protein dalam jangka waktu tertentu, simulasi molecular dinamis digunakan. Ini serupa dengan kondisi fisiologis tubuh. Simulasi dinamika molekular ini juga memiliki kemampuan untuk mengambil gambar dari berbagai proses biomolekular yang sangat penting, seperti perubahan konformasi, pengikatan ligan, dan pelipatan protein (Mohimani et al., 2017).

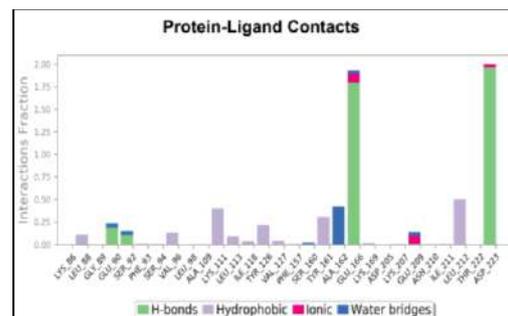
Hasil Molecular dynamic Reseptor PDB 5LVO



Gambar 8. Plot RMSD simulasi *molecular dynamic* terhadap reseptor 5LVO



Gambar 9. Plot RMSF simulasi *molecular dynamic* terhadap reseptor 5LVO



Gambar 10. Grafik batang senyawa hasil sintesis dalam kontak residu terhadap reseptor PDB 5LVO

Parameter RMSD merupakan parameter yang sering digunakan dalam geometri 3D senyawa untuk mengamati dan membandingkan perubahan konformasi suatu senyawa, sehingga dapat dilihat kestabilan interaksi reseptor-ligan (Mardiana & Ruswanto, 2019). Nilai RMSD menunjukkan seberapa banyak sistem telah berubah selama simulasi; nilai yang lebih rendah menunjukkan bahwa struktur masih stabil dan berada di tempatnya semula (Mohimani et al., 2017). **Gambar 8** menunjukkan hasil grafik plot RMSD simulasi *molecular dynamic* terhadap reseptor 5LVO.

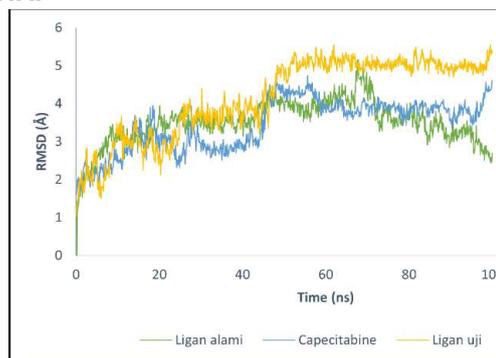
Senyawa *3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-(((4-Heptylphenyl) Formamido] Methanethiyl) Amino) Propyl] Thiourea* ditunjukkan dengan grafik berwarna hijau pada **Gambar 8**, memperlihatkan grafik yang fluktuatif pada awal simulasi hingga 30 ns, kemudian stabil dan fluktuatif kembali grafiknya pada 70-100 ns, serta menunjukkan kestabilan interaksi dengan nilai rata-rata 3,027 Å, sedangkan nilai rata-rata untuk ligan alami 3,380 Å, dan Capecitabine 3,394 Å. Nilai RMSD yang meningkat menunjukkan bahwa struktur protein mulai terbuka dan ligan mulai mencari sisi ikatan atau koordinat yang sesuai dengan protein tersebut, sedangkan nilai RMSD yang stabil menunjukkan bahwa konformasi tertinggi protein terikat dengan ligan telah tercapai, yang memungkinkan protein untuk mempertahankan posisinya. Selain itu, kecenderungan protein untuk mempertahankan strukturnya disebabkan oleh interaksi antar residu (Mardiana & Ruswanto, 2019).

Selain RMSD, kestabilan interaksi juga dinilai dari hasil analisis RMSF. Untuk mengetahui seberapa besar fluktuasi pergerakan masing-masing residu asam amino selama simulasi, pengukuran yang dikenal sebagai RMSF ditunjukkan oleh perubahan yang terjadi dari residu penyusun protein. Nilai RMSF menunjukkan bahwa residu asam amino yang memberikan fleksibilitas protein mengalami perubahan konformasi. Nilai RMSF ditentukan dari waktu 1 ns hingga akhir simulasi 100 ns (Mardiana & Ruswanto, 2019).

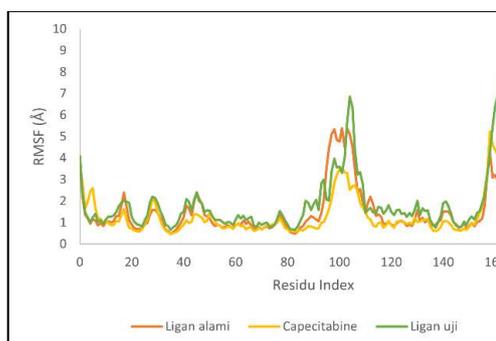
Berdasarkan **Gambar 9**, senyawa *3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-(((4-Heptylphenyl) Formamido] Methanethiyl Amino) Propyl] Thiourea*, ligan alami, dan Capecitabine dari grafik RMSF berada di area yang relatif sama, tetapi senyawa hasil sintesis memiliki fluktuasi yang lebih rendah bila dilihat dari nilai rata-rata RMSF-nya yaitu 1,114 Å, sedangkan ligan alami memiliki nilai 1,497 Å, dan Capecitabine memiliki nilai 1,239 Å. Nilai tersebut mengindikasikan bahwa simulasi antara senyawa hasil sintesis memiliki interaksi dan fleksibilitas yang baik terhadap reseptor PDB 5LVO jika dibandingkan dengan ligan alami dan Capecitabine.

Gambar 10 menandakan kontak residu terhadap asam amino dari reseptor PDB 5LVO dengan senyawa *3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-(((4-Heptylphenyl) Formamido] Methanethiyl Amino) Propyl] Thiourea*. Residu asam amino yang bereaksi dan berikatan baik melalui ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik, ikatan ion, serta jembatan air.

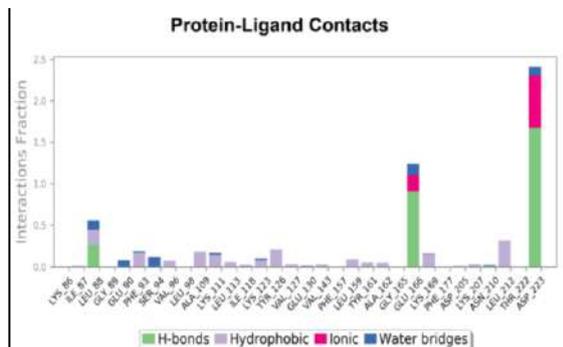
Hasil Molecular dynamic Reseptor PDB 3HRF



Gambar 11. Plot RMSD simulasi *molecular dynamic* terhadap reseptor 3HRF



Gambar 12. Plot RMSF simulasi *molecular dynamic* terhadap reseptor 3HRF



Gambar 10. Grafik batang senyawa hasil sintesis dalam kontak residu terhadap reseptor PDB 3HRF

Berdasarkan **Gambar 11**, terlihat bahwa hasil plot RMSD senyawa 3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-(((4-Heptylphenyl) Formamido] Methanethiyl) Amino) Propyl]Thiourea yang ditunjukkan dengan grafik berwarna kuning memperlihatkan grafik yang fluktuatif antara 0 hingga 50 ns, kemudian stabil hingga akhir simulasi, serta menunjukkan kestabilan interaksi dengan nilai rata-rata 4,612 Å, sedangkan nilai rata-rata ligan alami 3,498 Å, dan Capecitabine 3,442 Å. Berdasarkan nilai tersebut, interaksi antara senyawa hasil sintesis dan protein 3HRF tidak stabil.

Gambar 12 menunjukkan hasil plot RMSF pada senyawa 3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-(((4-Heptylphenyl) Formamido] Methanethiyl(Amino)Propyl]Thiourea, ligan alami, dan Capecitabine dari grafik RMSF berada di area yang relatif sama, tetapi senyawa hasil sintesis memiliki fluktuasi yang lebih tinggi bila dilihat dari nilai rata-rata RMSF-nya yaitu 1,891 Å, sedangkan ligan alami memiliki nilai 1,518 Å, dan Capecitabine memiliki nilai 1,402 Å. Nilai tersebut mengindikasikan bahwa simulasi antara senyawa hasil sintesis memiliki interaksi dan fleksibilitas yang kurang baik terhadap reseptor PDB 3HRF jika dibandingkan dengan ligan alami dan Capecitabine.

Gambar 13 menandakan kontak residu terhadap asam amino dari reseptor PDB 3HRF dengan senyawa 3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-

(((4-Heptylphenyl) Formamido] Methanethiyl Amino) Propyl] Thiourea. Residu asam amino yang bereaksi dan berikatan baik melalui ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik, ikatan ion, serta jembatan air.

Prediksi Farmakokinetik dan Toksisitas

Profil farmakokinetik dan toksisitas berperan penting dalam proses penemuan obat baru untuk mengetahui bahwa obat tersebut memiliki efektivitas yang baik untuk tubuh manusia. Parameter yang dianalisis yaitu HIA, permeabilitas kulit, BBB, VDss, OCT2, AMES toxicity, LD₅₀, Hepatotoksisitas. Tabel 10 merupakan analisis profil farmakokinetik dan toksisitas dari senyawa hasil sintesis yaitu 3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-(((4-Heptylphenyl) Formamido] Methanethiyl Amino) Propyl] Thiourea serta obat pembanding Capecitabine. **Tabel 9** merupakan hasil analisis profil farmakokinetik senyawa hasil sintesis yaitu 3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-(((4-Heptylphenyl) Formamido] Methanethiyl) Amino) Propyl] Thiourea dan pembanding Capecitabine.

Tabel 9. Analisis Profil Farmakokinetik dan Toksisitas

Parameter	Senyawa	
	3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-(((4-Heptylphenyl) Formamido] Methanethiyl Amino)Propyl] Thiourea	Capecitabine
HIA	86,652%	51,344%
Caco2	0,823	0,319
BBB	-0,981	-1,392
VDss	0,153	-0,073
OCT2	No	No
AMES Toxicity	No	No
LD ₅₀	3,148	2,387
Hepatotoksisitas	Yes	Yes
Tingkat Toksisitas	Toksik ringan	Toksik sedang

Obat oral diserap sebagian besar dalam usus. Pada prediksi HIA (*Human Intestinal Absorption*). Senyawa dengan nilai HIA <30% dianggap memiliki absorpsi yang lebih rendah, dan memiliki absorpsi yang baik apabila HIA >80%. (Abdullah et al., 2021). Senyawa 3-(4-

3-(4-Heptylphenyl) Formamido] Methanethioyl Amino) Propyl] Thiourea serta Capecitabine memiliki nilai HIA >80%, sehingga menunjukkan absorpsi yang baik pada usus.

Sel adenokarsinoma kolorektal epitel manusia adalah sumber sel Caco2. Sel monolayer Caco2 memprediksi penyerapan obat yang diberikan melalui rute pemberian oral. Apabila senyawa memiliki nilai Caco2 >0,90, dikatakan memiliki permeabilitas yang tinggi (Abdullah et al., 2021). Berdasarkan hasil pengujian, senyawa *3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-((4-Heptylphenyl) Formamido] Methanethioyl Amino) Propyl] Thiourea* memiliki nilai yang cukup dibandingkan dengan Capecitabine.

Faktor penting yang harus dipertimbangkan adalah kemampuan suatu obat untuk menembus sawar darah otak (*Blood Brain Barrier*). Senyawa dianggap dapat melewati sawar darah otak dengan baik apabila memiliki nilai logBB >0,3, dan senyawa memiliki distribusi yang kurang baik terhadap sawar darah otak jika memiliki nilai logBB <-1 (Abdullah et al., 2021). Senyawa *3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-((4-Heptylphenyl) Formamido] Methanethioyl Amino) Propyl] Thiourea* memiliki nilai yang cukup sedangkan pada pembanding Capecitabine memiliki nilai BBB yang kurang baik karena logBB <-1.

Volume distribusi *steady state* (VD_{ss}) adalah jumlah teoretis yang dibutuhkan untuk dosis obat secara keseluruhan untuk diserap ke dalam plasma darah. Jika suatu senyawa memiliki nilai log VD > 0,45 maka senyawa tersebut dikatakan mempunyai nilai VD_{ss} tinggi, dan nilai VD_{ss} rendah jika nilai log VD < -0,15 (Abdullah et al., 2021). Senyawa *3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-((4-Heptylphenyl) Formamido] Methanethioyl Amino) Propyl] Thiourea* serta Capecitabine memiliki nilai VD_{ss} yang cukup.

Substrat renal OCT2 berfungsi sebagai transporter pada ginjal dan berperan penting dalam proses pembersihan ginjal dari obat-obatan. Renal OCT2 substrat juga berpotensi menyebabkan interaksi ketika diberikan

Bersama pada inhibitor OCT2 (Abdullah et al., 2021). Hasil prediksi didapatkan bahwa senyawa *3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-((4-Heptylphenyl) Formamido] Methanethioyl Amino) Propyl] Thiourea* dan Capecitabine tidak menimbulkan interaksi pada inhibitor OCT2 dan bukan merupakan substrat renal OCT2.

Uji toksisitas AMES bertujuan untuk memprediksi senyawa yang berpotensi mutagenik. Hasil pengujian positif menunjukkan bahwa senyawa mempunyai sifat mutagenik dan dapat bertindak sebagai karsinogenik (Abdullah et al., 2021). Senyawa *3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-((4-Heptylphenyl) Formamido] Methanethioyl Amino) Propyl] Thiourea* dan Capecitabine menunjukkan hasil bahwa tidak bersifat mutagenik dan tidak berpotensi sebagai agen karsinogen.

Toksitas akut (LD₅₀) adalah parameter pengujian yang dilakukan untuk mengetahui nilai toksisitas relatif dari suatu senyawa. Nilai LD₅₀ adalah dosis senyawa yang akan membunuh 50% hewan uji. Hasil pengujian toksisitas akut dapat dilihat pada **Tabel 10**.

Uji hepatotoksitas dilakukan untuk mengetahui apakah suatu bahan dapat menyebabkan kerusakan hati. Hasil uji yang positif menunjukkan bahwa bahan tersebut bersifat hepatotoksik. Hasil pengujian hepatotoksitas menunjukkan bahwa senyawa *3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-((4-Heptylphenyl) Formamido] Methanethioyl Amino) Propyl] Thiourea* dan Capecitabine bersifat hepatotoksik.

Pengujian toksisitas juga dilakukan analisis pada klasifikasi toksisitas secara umum untuk melihat kategori toksisitas senyawa menggunakan *website* Protox. Hasil yang didapatkan yaitu senyawa *3-(4-Heptylbenzoyl)-1-[3-((4-Heptylphenyl) Formamido] Methanethioyl Amino) Propyl] Thiourea* berada pada tingkat toksik ringan, sedangkan pembanding Capecitabine berada pada tingkat toksik sedang.

KESIMPULAN

Dengan mempertimbangkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa senyawa 3-(4-Heptylbenzoyl) -1-[3-(((4-Heptylphenyl) Formamido] Methanethioly Amino) Propyl] Thiourea dapat disintesis menggunakan metode sonikasi dari reaksi antara senyawa 4-Heptilbenzoil klorida, KSCN, dan 1,3-Diaminopropana, sehingga diperoleh senyawa baru berbentuk kristal putih, tidak berbau, dan memiliki %yield sebesar 87%. Dari hasil studi in silico senyawa 3-(4-Heptylbenzoyl) -1-[3-(((4-Heptylphenyl) Formamido] Methanethioly Amino) Propyl] Thiourea memiliki interaksi yang baik dengan reseptor 3-Phosphoinositide Dependent Kinase-1 (PDK1) pada kode PDB 5LVO, serta pada profil farmakokinetik dan toksisitas secara umum lebih lebih baik daripada obat perbandingan Capecitabine yaitu pada Caco2, BBB, VDss, dan tingkatan toksisitas yang lebih baik. Dengan demikian, senyawa 3-(4-Heptylbenzoyl) -1-[3-(((4-Heptylphenyl) Formamido] Methanethioly Amino) Propyl] Thiourea memiliki potensi sebagai kandidat antikanker.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrawal, P., Singh, H., Srivastava, H. K., Singh, S., Kishore, G., & Raghava, G. P. S. (2019). Benchmarking of different molecular docking methods for protein-peptide docking. *BMC Bioinformatics*, 19(Suppl 13), 2449-y. <https://doi.org/10.1186/s12859-018-2449-y>
- Abdullah, S. S., Putra, P. P., Antasionasti, I., Rundengan, G., Suoth, E. J., Abdullah, R. P. I., & Abdullah, F. (2021). ANALISIS SIFAT FISIKOKIMIA, FARMAKOKINETIK DAN TOKSIKOLOGI PADA PERICARPIUM PALA (Myristica fragrans) SECARA ARTIFICIAL INTELLIGENCE. *Chemistry Progress*, 14(2), 81. <https://doi.org/10.35799/cp.14.2.2021.37112>
- Akbar, N.A., Amin, S., & Wulandari, W. T. (2022). STUDI IN SILICO SENYAWA YANG TERKANDUNG DALAM TANAMAN DAUN SIRIH MERAH (Piper crocatum RUITZ & PAV) SEBAGAI KANDIDAT ANTI SARS CoV-2. *Ejurnal Universitas Bth*, 2, 378–391. https://repository.universitas-bth.ac.id/2246/%0Ahttps://repository.universitas-bth.ac.id/2246/3/DAFTAR_PUSTAKA.pdf
- Arafa, W. A. A., Ghoneim, A. A., & Mourad, A. K. (2022). N-Naphthoyl Thiourea Derivatives: An Efficient Ultrasonic-Assisted Synthesis, Reaction, and In Vitro Anticancer Evaluations. *ACS Omega*, 7(7), 6210–6222. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c06718>
- Hermansyah, O., Salsabila, F. J., Pertiwi, R., Versita, R., & Ikhsan, I. (2022). Studi in Silico Senyawa Tumbuhan Famili Asteraceae Sebagai Penghambat Enzim Xantin Oxidase. *Pharma Xplore Jurnal Ilmiah Farmasi*, 7(2), 70–79. <https://doi.org/10.36805/jpx.v7i2.2942>
- Imanudin, N., Kurniawan, M. F., & Rohmayanti, T. (2022). Potensi Senyawa Aktif Ekstrak Kayu Manis Padang (Cinnamomum burmanii) sebagai Inhibitor Enzim Aldose Reductase secara Moleculer Docking. *JRST (Jurnal Riset Sains Dan Teknologi)*, 6(2), 171. <https://doi.org/10.30595/jrst.v6i2.14262>
- Kelutur, F. J., Mustarichie, R., & Umar, A. K. (2020). Virtual Screening Kandungan Senyawa Kipas Laut (Gorgonia mariae) sebagai Anti-Asma. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 16(2), 48. <https://doi.org/10.20961/alchemistry.16.2.39965.48-59>
- Kesuma, D., Siswandono, S., Purwanto, B. T., & Hardjono, S. (2018). Uji in silico Aktivitas Sitotoksik dan Toksisitas Senyawa Turunan N-(Benzoyl)-N'-feniltiourea Sebagai Calon Obat Antikanker. *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 3(1), 1. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v3i1.16266>
- Khasanah, N. U., Wardani, G. A., & Mardianingrum, R. (2023). *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi* 3-Phenylthiourea) Cobalt (III) as Anticancer Candidate. 26(7), 238–248.
- Mardiana, M., & Ruswanto. (2019). Simulasi Dinamika Molekular Senyawa Pyridin Pada Protein 2XNB. *Research Gate*, 9(5), 1–15.
- Marselia, A., Wahdaningsih, S., & Nugraha, F. (2021). Analisis gugus fungsi dari ekstrak metanol kulit buah naga merah (Hylocereus polyrhizus) menggunakan

- FT-IR. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 5(1), 1–5.
- Mohimani, H., Gurevich, A., Mikheenko, A., Garg, N., Nothias, L.-F., Ninomiya, A., Kentaro Takada, P. C. D., & Pevzner, P. A. (2017). *Molecular dynamics for all. Physiology & Behavior*, 176(3), 139–148. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.08.011>.Molecular
- Narmani, A., & Jafari, S. M. (2021). Chitosan-based nanodelivery systems for cancer therapy: Recent advances. *Carbohydrate Polymers*, 272(May), 118464. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118464>
- Pagarra, H. (2022). *SEKUNDER EKSTRAK ETANOL DAUN KAYU JAWA Lannea coromandelica*. 5(September 2022), 161–168.
- Prasetiawati, R., Suherman, M., Permana, B., & Rahmawati, R. (2021). Molecular Docking Study of Anthocyanidin Compounds Against Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) as Anti-Lung Cancer. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 8(1), 8. <https://doi.org/10.24198/ijpst.v8i1.29872>
- Ploskonos, M. V., Syatkin, S. P., Neborak, E. V., Hilal, A., Sungrapova, K. Y., Sokuyev, R. I., Blagonravov, M. L., Korshunova, A. Y., & Terentyev, A. A. (2020). Polyamine analogues of propanediamine series inhibit prostate tumor cell growth and activate the polyamine catabolic pathway. *Anticancer Research*, 40(3), 1437–1441. <https://doi.org/10.21873/anticancer.14085>
- Ruswanto, R., Nofianti, T., Mardianingrum, R., & Lestari, T. (2018). Desain dan Studi In Silico Senyawa Turunan Kuwanon-H sebagai Kandidat Obat Anti-HIV. *Jurnal Kimia VALENSI*, 4(1), 57–66. <https://doi.org/10.15408/jkv.v4i1.6867>
- Ruswanto, R., & Nugraha, A. (2015). Sintesis Senyawa 1-(4-Hephtilbenzoil-3-Metiltiourea) Dan Uji Sitotoksitas Terhadap Sel T47D Sebagai Kandidat Antikanker. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-Ilmu Keperawatan, Analis Kesehatan Dan Farmasi*, 14(1), 145.
- Ruswanto, R., Sarwatiningsih, Y., Pratita, A. T. K., Indra, & Dewi, R. (2019). Synthesis and Characterization of Fe(III) Complex with N'-(3-Nitrobenzoyl)isonicotinohydrazide as an Anti-tuberculosis Candidate. *Journal of Physics: Conference Series*, 1179(1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1179/1/012136>
- Ruswanto, R. (2015). Sintesis Dan Analisis Spektrum Senyawa 3-Benzoil-1-Feniltiourea Serta Uji Interaksinya Pada Reseptor Kanker. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-Ilmu Keperawatan, Analis Kesehatan Dan Farmasi*, 12(1), 177. <https://doi.org/10.36465/jkbth.v12i1.77>
- Ruswanto, R., Mardianingrum, R., Siswandono, S., & Kesuma, D. (2020). Reverse docking, molecular docking, absorption, distribution, and toxicity prediction of artemisinin as an anti-diabetic candidate. *Molekul*, 15(2), 88–96. <https://doi.org/10.20884/1.jm.2020.15.2.579>
- Ruswanto, R., Mardianingrum, R., & Yanuar, A. (2022). Computational Studies of Thiourea Derivatives as Anticancer Candidates through Inhibition of Sirtuin-1 (SIRT1). *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 25(3), 87–96. <https://doi.org/10.14710/jksa.25.3.87-96>
- Ruswanto, R., Miftah, A. M., Tjahjono, D. H., & Siswandono. (2021). In silico study of 1-benzoyl-3-methylthiourea derivatives activity as epidermal growth factor receptor (EGFR) tyrosine kinase inhibitor candidates. *Chemical Data Collections*, 34(36), 100741. <https://doi.org/10.1016/j.cdc.2021.100741>
- Ruswanto, R., Nofianti, T., Mardianingrum, R., Kesuma, D., & Siswandono. (2022). Design, molecular docking, and molecular dynamics of thiourea-iron (III) metal complexes as NUDT5 inhibitors for breast cancer treatment. *Heliyon*, 8(9). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e10694>
- Ruswanto, R., Nofianti, T., Mardianingrum, R., & Lestari, T. (2018). Desain dan Studi In Silico Senyawa Turunan Kuwanon-H sebagai Kandidat Obat Anti-HIV. *Jurnal Kimia VALENSI*, 4(1), 57–66. <https://doi.org/10.15408/jkv.v4i1.6867>
- Ruswanto, R., & Nugraha, A. (2015). Sintesis Senyawa 1-(4-Hephtilbenzoil-3-Metiltiourea) Dan Uji Sitotoksitas Terhadap Sel T47D Sebagai Kandidat Antikanker. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-Ilmu Keperawatan, Analis Kesehatan Dan Farmasi*, 14(1), 145.

145.
<https://doi.org/10.36465/jkbth.v14i1.123>
- Ruswanto, R., Sarwatiningsih, Y., Pratita, A. T. K., Indra, & Dewi, R. (2019). Synthesis and Characterization of Fe(III) Complex with N'-(3-Nitrobenzoyl)isonicotinohydrazide as an Anti-tuberculosis Candidate. *Journal of Physics: Conference Series*, 1179(1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1179/1/012136>
- Ruswanto, R., Trisna Wulandari, W., Mardianingrum, R., & Cantika, I. (2021). Synthesis and virtual screening of bis-(4-(tert-butyl)-N-(methylcarbamothioyl)benzamide)-Iron (III) complex as an anticancer candidate. *Pharmaciana*, 11(1), 1. <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v11i1.17837>
- Sari, I. W., Junaidin, J., & Pratiwi, D. (2020). STUDI MOLECULAR DOCKING SENYAWA FLAVONOID HERBA KUMIS KUCING (*Orthosiphon stamineus* B.) PADA RESEPTOR α -GLUKOSIDASE SEBAGAI ANTIDIABETES TIPE 2. *Jurnal Farmagazine*, 7(2), 54. <https://doi.org/10.47653/farm.v7i2.194>
- Suryani, Y., Taupiqurrohman, O., Rikani, A., & Paujjah, E. (2018). Insilico docking studies of daidzeion compounds as selective estrogen receptor modulator (SERMS) breast cancer. *MATEC Web of Conferences*, 197, 1–5. <https://doi.org/10.1051/mateconf/201819703009>
- Wade, L. G., 2013, *Organic Chemistry, Eighth Edition*, Pearson Education, IL,
- Wahdaningsih, S., Nugraha, F., Kurniawan, H., Marselia, A., & Sari, D. N. (2022). Identifikasi Gugus Fungsi Fraksi Etil Asetat dan Fraksi n-Heksan *Hylocereus polyrhizus* (F.A.C.Weber) Britton & Rose. *Jurnal Pharmascience*, 9(1), 113. <https://doi.org/10.20527/jps.v9i1.11192>
- Yahya, E. B., & Alqadhi, A. M. (2021). Recent trends in cancer therapy: A review on the current state of gene delivery. *Life Sciences*, 269(December 2020), 119087. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119087>
- Yualanda, V. G., Sary, I. P., & Pangaribowo, D. A. (2018). Sintesis dan Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa N-Fenil-3,4-Diklorobenzamida (Synthesis and Antibacterial Activity Assay of N-Phenyl-3,4-Dichlorobenzamide). *Pustaka Kesehatan*, 6(1), 5. <https://doi.org/10.19184/pk.v6i1.6610>