

## Studi Komputasi Potensi Anti-Kanker Payudara dari Senyawa Bioaktif Daun Belimbing Wuluh

Saeful Amin, Muhammad Fauzan Maulana Zidane, Mochamad Fathurrochman  
Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Bakti Tunas Husada Tasikmalaya

\* Corresponding author: [saefulamin@universitas-bth.ac.id](mailto:saefulamin@universitas-bth.ac.id)

### Abstract

Breast cancer is a disease with the second highest mortality rate among women. *Averrhoa bilimbi* L is considered as a potential cytotoxic agent on breast cancer cells. This study aims to determine the anticancer activity of *Averrhoa bilimbi* L compounds and the bonding relationship that occurs with breast cancer receptors. The research methods used are computational studies with molecular docking, pkCSM, drugscan test, and molecular dynamic simulation. The results of the molecular docking computational study, from 43 compounds of *Averrhoa bilimbi* L, there are 5 compounds that show the best binding affinity, namely Squalene compounds, 19-hydroxycinnzeylanol-19-glucoside, Dehydrophytosphingosine, Phytosphingosine, and 2-Amino-1-hydroxyoctadec-4-en-3-one. The pkCSM assays of these five compounds had good and non-toxic results. In addition, drugscan test results showed that the compounds Squalene, 19-hydroxycinnzeylanol-19-glucoside, 2-amino-1-hydroxyoctadec-4-en-3-one, and Dehydrophytosphingosine met the test parameter requirements. Also, the molecular dynamics simulation results for 10ns showed stable RMSD values for Squalene, 19-hydroxycinnzeylanol-19-glucoside, and 2-amino-1-hydroxyoctadec-4-en-3-one, while RMSF values showed less stability for the five compounds.

**Keywords:** Computational Studi, Anti-Breast Cancer, *Averrhoa bilimbi* L

### Abstrak

Kanker payudara adalah penyakit dengan angka kematian tertinggi kedua di kalangan wanita. Daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dianggap berpotensi sebagai agen sitotoksik pada sel kanker payudara. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antikanker dari senyawa daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dan hubungan ikatan yang terjadi dengan reseptor kanker payudara. Metode penelitian yang digunakan yaitu studi komputasi dengan molecular docking, pkCSM, uji drugscan, dan simulasi molecular dynamic. Hasil studi komputasi molecular docking, dari 43 senyawa daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.), terdapat 5 senyawa yang menunjukkan binding affinity terbaik, yaitu senyawa Squalene, 19-hydroxycinnzeylanol-19-glucoside, Dehydrophytosphingosine, Phytosphingosine, dan 2-Amino-1-hydroxyoctadec-4-en-3-one. Pengujian pkCSM dari kelima senyawa ini memiliki hasil yang baik dan tidak toksik. Selain itu, hasil uji drugscan menunjukkan bahwa senyawa Squalene, 19-hydroxycinnzeylanol-19-glucoside, 2-amino-1-hydroxyoctadec-4-en-3-one, dan Dehydrophytosphingosine memenuhi syarat parameter uji. Serta, hasil simulasi dinamika molekuler selama 10ns menunjukkan nilai RMSD yang stabil pada senyawa Squalene, 19-hydroxycinnzeylanol-19-glucoside, dan 2-amino-1-hydroxyoctadec-4-en-3-one, sementara nilai RMSF menunjukkan kestabilan yang kurang pada kelima senyawa tersebut.

**Kata kunci:** Studi Komputasi, Anti-Kanker Payudara, Daun Belimbing Wuluh,

### PENDAHULUAN

Kanker payudara adalah penyakit dengan angka kematian tertinggi kedua di kalangan

wanita. Daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dianggap berpotensi sebagai agen sitotoksik pada sel kanker payudara. Penelitian

ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antikanker dari senyawa daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dan hubungan ikatan yang terjadi dengan reseptor kanker payudara. Metode penelitian yang digunakan yaitu studi komputasi dengan molecular docking, pkCSM, uji drugscan, dan simulasi molecular dynamic. Hasil studi komputasi molecular docking menunjukkan bahwa dari 43 senyawa daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.), terdapat 5 senyawa dengan binding affinity terbaik, yaitu Squalene, 19-hydroxycinnzeylanol-19-glucoside, Dehydrophytosphingosine, Phytosphingosine, dan 2-Amino-1-hydroxyoctadec-4-en-3-one. Pengujian pkCSM dari kelima senyawa memiliki hasil yang baik dan tidak toksik. Selain itu, hasil uji drugscan mengindikasikan bahwa Squalene, 19-hydroxycinnzeylanol-19-glucoside, 2-amino-1-hydroxyoctadec-4-en-3-one, dan Dehydrophytosphingosine memenuhi syarat parameter uji. Namun, simulasi dinamika molekuler selama 10ns menunjukkan bahwa Squalene, 19-hydroxycinnzeylanol-19-glucoside, dan 2-amino-1-hydroxyoctadec-4-en-3-one memiliki nilai RMSD yang stabil, sementara kelima senyawa menunjukkan nilai RMSF yang kurang stabil.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari 43 senyawa daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) serta tiga reseptor terkait kanker payudara, yaitu reseptor estrogen (PDB ID 3ERT), reseptor HER2 (PDB ID 3PP0), dan reseptor NUDT5 (PDB ID 5NWH).

### Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari perangkat lunak dan perangkat keras. Perangkat lunak yang digunakan mencakup YASARA, PLANTS, Discovery Studio Visualizer, MarvinSketch, dan Molegro Molecular Viewer (MMV). Selain itu, juga digunakan program berbasis web seperti PubChem, PDB, pkCSM, Lipinski's Rule of Five, dan Amber. Untuk perangkat keras, digunakan laptop dengan spesifikasi AMD A9-

9425 RADEON R5, CPU 3,1GHz (2 CPU) x 8,00 GB RAM, serta sistem operasi 64-bit.

## Metode

### Analisis Reseptor

Langkah pertama adalah menganalisis reseptor target melalui situs web [Protein Data Bank \(PDB\)](#) dengan memeriksa profil protein yang terdaftar di PDB menggunakan kode 3ERT, 3PP0, 5NWH. Semakin banyak residu asam amino yang terletak pada *most favoured regions* dan semakin rendah persentase residu pada *disallowed regions*, maka kualitas struktur akan semakin baik dan stabil (Sari et al., 2020).

### Preparasi Reseptor

Proses preparasi reseptor dilakukan dengan mengunduh struktur kompleks melalui situs web Protein Data Bank menggunakan kode 3ERT, 3PP0, dan 5NWH. Selanjutnya, reseptor dipreparasi kembali menggunakan perangkat lunak YASARA untuk memisahkan pelarut, ligand, atau residu. Prosedur ini menghasilkan tiga file, protein.mol2, ref\_ligan.mol2, dan ligan.mol2 (Pratiwi, 2021).

### Preparasi Ligand

Preparasi ligand dilakukan dengan menggambar ligand menggunakan bantuan perangkat lunak MarvinSketch. Selanjutnya, dilakukan protonasi pada pH yang sesuai dengan pH darah (7,4). Konformasi struktur dari 43 senyawa uji dilakukan menggunakan perangkat lunak MarvinSketch dari *ChemAxon*. Setelah proses preparasi selesai, ligand disimpan dalam format file .mol2.

### Validasi Metode Docking

Validasi dilakukan untuk memastikan nilai Root Mean Square Deviation (RMSD) dengan bantuan perangkat lunak YASARA. Kedua file hasil preparasi, yaitu protein.mol2 dan ref\_ligand.mol2, didocking menggunakan program PLANTS yang terhubung dengan Copendrivelineux. Kompleks protein dan ref\_ligand dengan 'skor terbaik' terendah dihitung berdasarkan nilai RMSD, yang menunjukkan sejauh mana perubahan interaksi antara protein dan ligand dalam struktur kristal sebelum dan sesudah docking. Jika nilai RMSD pada reseptor  $< 2 \text{ \AA}$ , maka dapat dianggap valid

untuk digunakan sebagai ligand uji (Ruswanto et al., 2022).

### Docking Ligan Uji Terhadap Reseptor Target

Docking dilakukan menggunakan program PLANTS, di mana hasil preparasi protein dan ligan disimpan dalam format .mol2. Untuk menemukan situs pengikatan, digunakan perintah "plants-mode bind ref\_ligand .mol2 5 protein.mol2". Proses docking dapat dimulai dengan perintah "plants -mode screen pc\_5nwh.txt". Hasil docking dapat diakses melalui terminal dengan perintah "cd results" diikuti oleh "more bestranking.csv". Skor terbaik dari hasil docking kemudian dibandingkan dengan skor terbaik dari senyawa pembanding (Serlahwaty & Giovani, 2021).

### Visualisasi Hasil Docking

Setelah memperoleh skor tertinggi dari proses docking, langkah berikutnya adalah memvisualisasikan hasil docking tersebut. Setiap file hasil docking dibuat menggunakan program YASARA dengan format file .pdb. Hasil tersebut kemudian divisualisasikan dan diinterpretasikan untuk menganalisis interaksi, menggunakan aplikasi VMD. Skor docking tertinggi menunjukkan ligand uji dengan nilai terendah. Selanjutnya, program Discovery Studio Visualizer digunakan untuk mengakses dan memvisualisasikan data interaksi serta hasil pengikatan antara ligand uji dan reseptor, guna mengonfirmasi interaksi antara protein dan ligan (Serlahwaty & Giovani, 2021).

### Skrining Ligand (Drugscan)

Proses analisis drugscan dilakukan pada senyawa terbaik yang telah melewati tahap docking dan dinamika molekul. Analisis ini mengacu pada Lipinski's Rule of Five, dengan tujuan untuk memastikan bahwa senyawa kimia yang memiliki aktivitas farmakologis atau biologis memenuhi sifat kimia dan fisik yang diperlukan agar dapat berfungsi secara efektif sebagai obat oral bagi manusia (Ruswanto et al., 2022).

### Prediksi Profil Farmakokinetik dan Toksisitas

Aktivitas farmakokinetik dan toksisitas dapat dianalisis menggunakan program pkCSM yang dapat diakses secara gratis. Ligand diunggah ke situs web pkCSM, yang dapat menilai sifat fisikokimia, farmakokinetik, kemiripan obat, dan toleransi molekul farmakokimia.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Analisis Reseptor

Penelitian ini menggunakan reseptor yang berfungsi sebagai antikanker payudara. Reseptor yang digunakan adalah 5NWH, yang diunduh dari situs web Protein Data Bank (PDB). Dalam proses analisis reseptor, beberapa aspek yang perlu diperhatikan meliputi resolusi reseptor, keberadaan native ligand, serta nilai resolusi <2 Å agar pengujian pada reseptor tersebut dapat dilakukan dengan efektif.

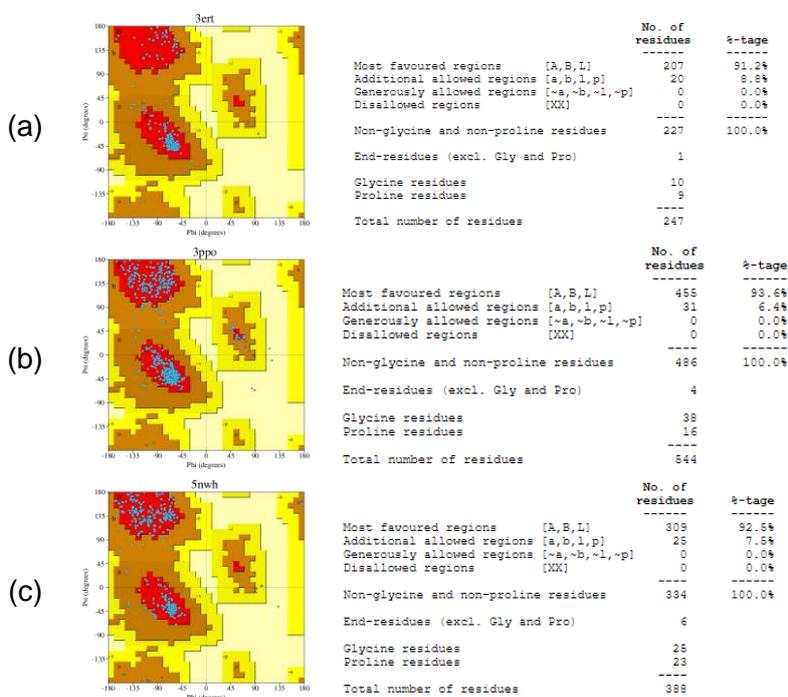
**Tabel 1.** Informasi Reseptor 3ERT, 3PPO, 5NWH

Reseptor	Moleculer	Native Ligand	Resolusi
3ERT	Protein (Estrogen Receptor Alpha)	Human Estrogen Receptor Alpha Ligand-Binding Domain in Complex 4-hydroxytamoxifen	1,90 Å
3PPO	Glycine betaine/carnitine/choline-binding protein	Structures of the substrate-binding protein provide insights into the multiple compatible solutes binding specificities of	2,70 Å

		Bacillus subtilis ABC transporter OpuC	
		Potent inhibitors of NUDT5 silence hormone signaling in breast cancer	
5NWH	ADP-sugar pyrophosphatase	2,60 Å	

Untuk mengetahui apakah reseptor berkualitas baik atau tidak dalam analisis, dapat juga dilakukan dengan memeriksa profil plot Ramachandran. Plot Ramachandran merupakan sebuah ilustrasi grafis yang digunakan untuk memvisualisasikan posisi

energetik backbone protein berdasarkan sudut torsi. Suatu protein dianggap baik jika lebih dari 90% dari plot residu berada di wilayah yang sangat disukai, dan R-factor-nya tidak melebihi 20% (Aziz et al., 2022).



**Gambar 1.** Ramachandran Plot (a) 3ERT, (b) 3PPO, (c) 5NWH

Berdasarkan gambar 1, struktur protein 3ERT menunjukkan bahwa 91,2% asam amino terletak di wilayah yang paling disukai (*most favoured regions*) dan 0,0% terletak di wilayah yang paling tidak disukai (*disallowed regions*). Reseptor 3PPO menunjukkan bahwa 93,6% asam amino terletak di wilayah yang paling disukai (*most favoured regions*) dan 0,0% terletak di wilayah yang paling tidak disukai (*disallowed regions*). Serta, reseptor 5NWH menunjukkan bahwa 92,5% asam amino terletak di wilayah yang paling disukai (*most*

*favoured regions*) dan 0,0% terletak di wilayah yang paling tidak disukai (*disallowed regions*).

#### Preparasi Reseptor

Proses preparasi reseptor dilakukan dengan mengunduh struktur kompleks melalui situs web Protein Data Bank menggunakan kode 3ERT, 3PPO, dan 5NWH. Selanjutnya, reseptor dipreparasi kembali menggunakan perangkat lunak YASARA untuk memisahkan pelarut, ligan, atau residu. Prosedur ini menghasilkan tiga file, protein.mol2, ref\_ligan.mol2, dan ligan.mol2 (Pratiwi, 2021).

### Preparasi Ligan Senyawa Uji

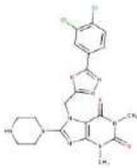
Proses preparasi ligan dilakukan dengan menggambar ligan menggunakan perangkat lunak MarvinSketch. Struktur ligan diunduh dari situs web PubChem.ncbi dengan mengambil data canonical SMILES, kemudian dibuka di perangkat lunak MarvinSketch. Selanjutnya, proses protonasi dilakukan pada pH 7,4 untuk menyesuaikan dengan kondisi pH tubuh manusia. Konformasi ligan kemudian dioptimalkan untuk mendapatkan molekul yang paling efisien, sehingga energi potensial yang dihasilkan menjadi yang terendah. Ligan yang dipersiapkan menggunakan perangkat lunak MarvinSketch meliputi ligan asli dari reseptor 5NWH, obat perbandingan megestrol acetate,

dan 43 senyawa uji yang memiliki potensi sebagai antikanker payudara.

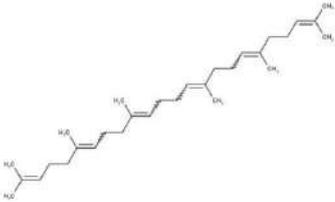
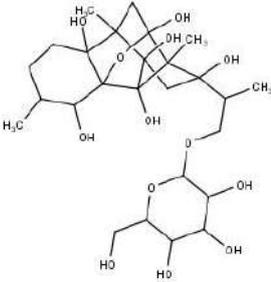
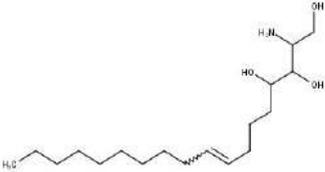
### Validasi Metode Docking

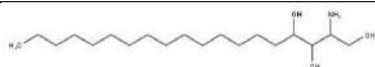
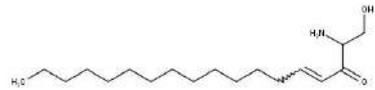
Proses validasi dilakukan untuk memastikan nilai RMSD menggunakan bantuan perangkat lunak YASARA. Jika nilai RMSD pada reseptor <2 Å, maka dapat dianggap valid untuk digunakan sebagai ligan uji (Ruswanto et al., 2022). Dalam penelitian ini, proses validasi metode docking dilakukan dengan meredocking ligan asli atau ligan native pada protein yang diunduh dari situs web Protein Data Bank (PDB), yang meliputi tiga reseptor, yaitu 3ERT, 3PPO, dan 5NWH.

Tabel 2. Struktur Native Ligan

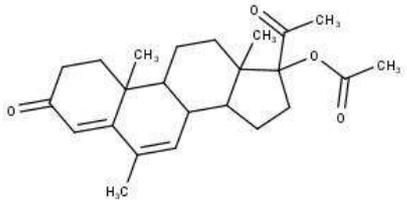
Reseptor	Native Ligan	Struktur Senawa
5NWH	7-[[5-(3,4-dichlorophenyl)-1,3,4-oxadiazol-2-yl]methyl]-1,3-dimethyl-8-piperazin-1-yl-purine-2,6-dione	

Tabel 3. Struktur Ligan Uji

Nama Senyawa	Rumus	Struktur Kimia
Squalene	C <sub>30</sub> H <sub>50</sub>	
19-Hydroxycinnzeylanol 19-glucoside	C <sub>26</sub> H <sub>42</sub> O <sub>13</sub>	
Dehydrophytosphingosine	C <sub>18</sub> H <sub>37</sub> NO <sub>3</sub>	

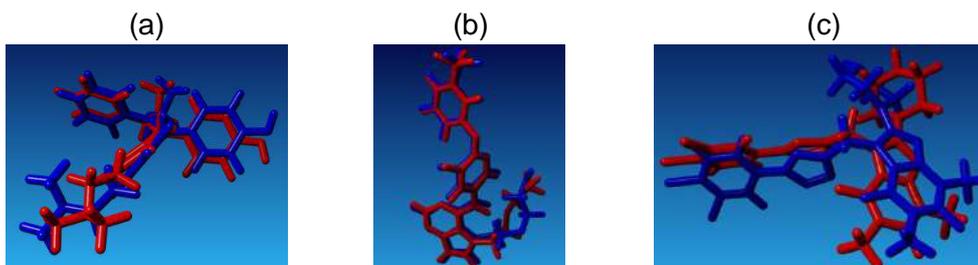
Nama Senyawa	Rumus	Struktur Kimia
Phytosphingosine	$C_{18}H_{39}NO_3$	
2-Amino-1-hydroxyoctadec-4-en-3-one	$C_{18}H_{35}NO_2$	

**Tabel 4.** Struktur Senyawa Pemanding

Obat	Rumus	Struktur Kimia
Megestrol Acetate	$C_{24}H_{32}O_4$	

**Tabel 5.** Hasil RMSD Reseptor 3ERT, 3PPO, 5NWH

Reseptor	Nilai RMSD
3ERT	2,3312
3PPO	2,3975
5NWH	1,4558



**Gambar 2.** Hasil Validasi Docking (a) 3ERT, (b) 3PPO, (c) 5NWH

### Docking Ligan Uji Terhadap Reseptor Target

Proses docking ligan uji dilakukan untuk memperoleh nilai skor ChemPLP ( $\Delta G$ ) yang berdasarkan pada interaksi antara reseptor dan ligan. Reseptor yang digunakan dalam

penelitian ini adalah 5NWH karena memiliki nilai resolusi  $\leq 2$  Å. Beberapa obat pemanding yang digunakan meliputi megestrol acetate, docetaxel, paclitaxel, serta ligan yang di uji terdiri dari 43 senyawa uji yang memiliki potensi sebagai antikanker payudara.

**Tabel 6.** Hasil Docking Protein dan Senyawa Uji

Hasil Docking	Plant Score
	Reseptor 5NWH
Nature Ligand	-85,914
Megestrol acetate	-60,696
Docetaxel	-89,306

**Senyawa Uji Pada Tanaman Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L)**

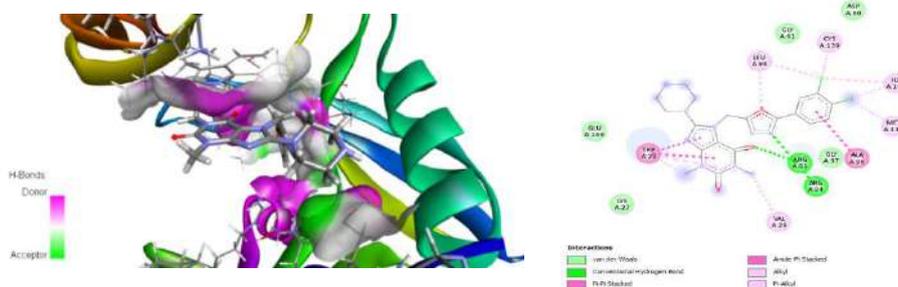
Squalene	-94,711
19-Hydroxycinnzeylanol 19-glucoside	-90,509
Dehydrophytosphingosine	-92,193
Phytosphingosine	-92,338
2-Amino-1-hydroxyoctadec-4-en-3-one	-90,732

Berdasarkan tabel 4.6, hasil docking dari 43 senyawa uji terhadap reseptor 5NWH menunjukkan bahwa beberapa senyawa memiliki aktivitas yang lebih baik dibandingkan dengan native ligand. Senyawa Squalene memiliki nilai binding affinity -94,711, 2-amino-1-hydroxyoctadec-4-en-3-one memiliki nilai binding affinity -90,732, 19-hydroxycinnzeylanol-19-glucoside memiliki nilai binding affinity -90,509,

Dehydrophytosphingosine memiliki nilai binding affinity -92,193, dan Phytosphingosine memiliki nilai binding affinity -92,338.

**Visualisasi Hasil Docking**

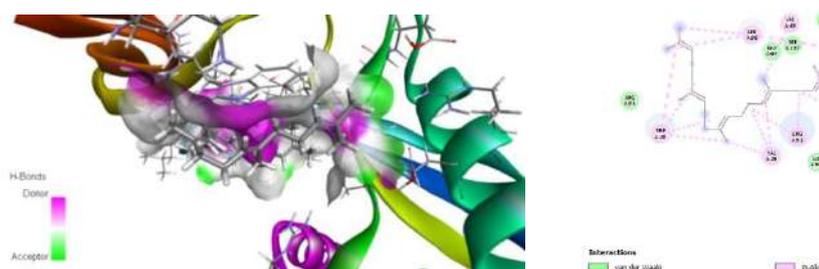
Berikut adalah hasil visualisasi menggunakan Discovery Studio Visualizer, dengan reseptor 5NWH dan ligand uji yang menunjukkan energi ikatan yang cukup baik dapat dilihat pada gambar di bawah ini.



**Gambar 3.** Visualisasi dan Interaksi Native Ligand Pada Reseptor 5NWH

Berdasarkan gambar 3, interaksi antara protein dengan native ligand pada reseptor 5NWH memiliki beberapa interaksi, yaitu terdapat ikatan hidrogen yang melibatkan GLU A:112, ARG A:51, ARG A:84. Selain itu, terdapat juga

ikatan hidrofobik seperti interaksi van der waals, pi-pi Stacked, Amide-Pi Stacked, Alkyl, dan Pi-Alkyl yang melibatkan GLU A:166, GLU A:115, ARG A:111, GLU A:93, GLY A:61, dan VAL A:62.

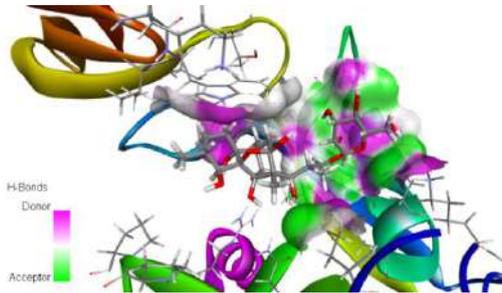


**Gambar 4.** Visualisasi dan Interaksi Squalene Pada Reseptor 5NWH

Berdasarkan gambar 4, senyawa Squalene tidak memiliki ikatan hidrogen yang serupa dengan native ligand. Namun, terdapat ikatan hidrofobik yang berupa ikatan van der waals,

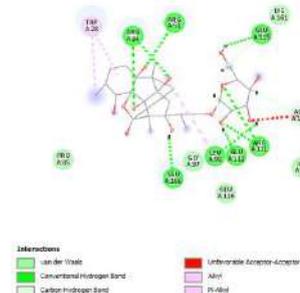
Alkyl, dan Pi-alkyl yang melibatkan residu-residu seperti LYS A:50, VAL A:62, TRP A:28, GLY A:97, SER A:137, VAL A:29, CYS A:139, ASP A:60, ARG A:51, MET A:132, GLY A:61,

ILE A:141, ALA A:96, ASP A:133, ARG A:84, VAL A:409, dan LEU A:98. Beberapa residu

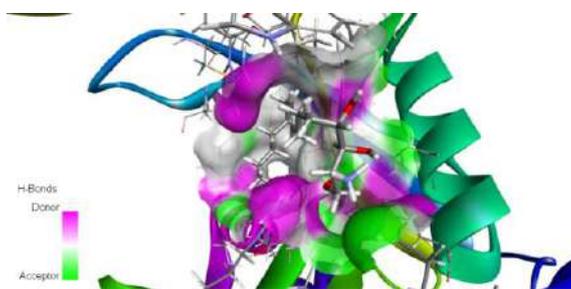


**Gambar 5.** Visualisasi dan Interaksi 19-hydroxycinnzeylanol-19-glucoside Pada Reseptor 5NWH Berdasarkan gambar 5, senyawa 19-hydroxycinnzeylanol-19-glucoside memiliki ikatan hidrogen yang serupa dengan native ligand, yaitu pada residu ARG A:84, ARG A:51, GLU A:112 dan GLU A:116, yang serupa

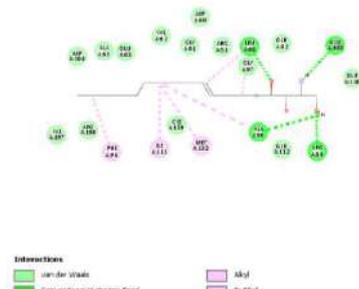
yang terlibat dalam ikatan hidrofobik ini juga ditemukan pada GLY A:61 dan VAL A:62.



dengan ikatan hidrofobik pada native ligand. Ikatan hidrofobik yang terjadi meliputi interaksi van der waals dan Alkyl, yang terdapat pada residu PRO A:85, GLU A:116, ILE A:99, LYS A:161, dan TRP A:28.



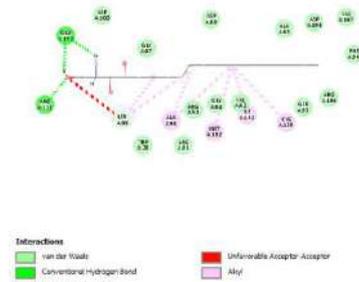
**Gambar 6.** Visualisasi dan Interaksi Dehydrophytosphingosine Pada Reseptor 5NWH Berdasarkan gambar 6, senyawa Dehydrophytosphingosine memiliki ikatan hidrogen yang serupa dengan native ligand, yaitu pada residu ARG A:84 dan GLU A:166, yang serupa dengan ikatan hidrofobik pada native ligand. Ikatan hidrofobik yang terjadi



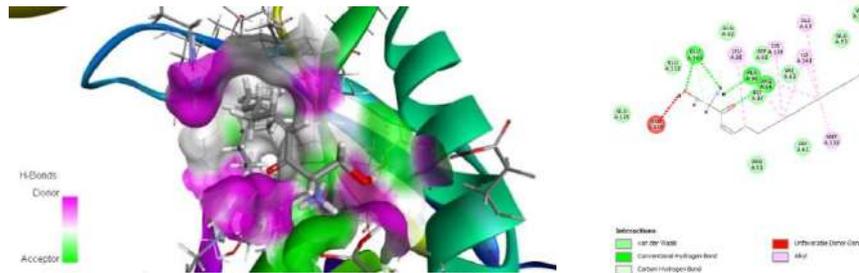
meliputi interaksi van der waals, Alkyl, dan Pi-Alkyl, yang terdapat pada residu GLU A:112, VAL A:62, ASP A:194, GLY A:97, CYS A:139, GLU A:93, ASP A:60, ARG A:51, GLU A:116, ALA A:63, GLY A:61, dan GLN A:82.



**Gambar 7.** Visualisasi dan Interaksi Phytosphingosine Pada Reseptor 5NWH Berdasarkan gambar 7, senyawa Phytosphingosine memiliki ikatan hidrogen yang serupa dengan native ligand, yaitu pada residu GLU A:112 dan ARG A:111, yang juga serupa dengan ikatan hidrofobik pada native ligand. Ikatan hidrofobik yang terjadi meliputi

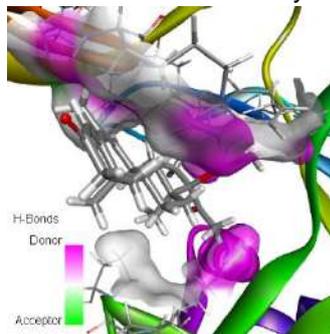


ikatan van der Waals dan juga Alkyl, yang terdapat pada residu TRP A:28, ARG A:51, GLY A:61, VAL A:62, ALA A:63, GLU A:93, PHE A:94, ASP A:100, GLY A:97, ASP A:60, ARG A:84, VAL A:197, ARG A:196, ASP dan A:194.



**Gambar 8.** Visualisasi dan Interaksi 2-Amino-1-hydroxyoctadec-4-en-3-one Pada Reseptor 5NWH Berdasarkan gambar 8, senyawa 2-Amino-1-hydroxyoctadec-4-en-3-one memiliki ikatan hidrogen yang serupa dengan native ligand, yaitu pada residu ARG A:84 dan GLU A:166, yang juga serupa dengan ikatan hidrofobik pada native ligand. Ikatan hidrofobik yang

terjadi meliputi interaksi van der Waals dan Alkyl, yang terdapat pada residu GLU A:112, GLN A:82, ESP A:60, VAL A:62, GLU A:93, VAL A:197, PHE A:94, ASP A:194, ARG A:196, GLY A:61, ARG A:51, dan GLU A:115.



**Gambar 9.** Visualisasi dan Interaksi Megestrol Acetat Pada Reseptor 5NWH

Berdasarkan gambar 9, menunjukkan bahwa obat perbandingan memiliki ikatan hidrogen yang serupa dengan native ligand yaitu pada residu ARG A:51. Namun obat perbandingan tidak memiliki ikatan hidrofobik yang serupa dengan native ligand. Ikatan hidrofobik yang terjadi meliputi interaksi van der Waals dan Alkyl, yang ditemukan pada residu LYS A:27, GLY A:26, LEU A:98, PRO A:86, dan ARG A:84.

### Skrining Ligand (Drug Scan)

Lipinski's Rule of Five adalah standar atau serangkaian kriteria untuk senyawa molekul kecil yang bisa dikembangkan menjadi obat. Kriteria dalam aturan ini mencakup berat molekul (MW) <500 g/mol, lipofilitas <5, jumlah donor ikatan hidrogen (HBD) <5, jumlah akseptor ikatan hidrogen <10, dan molar refraktif yang berada dalam rentang 40-130 (Kholifah & Endah, 2022).

**Tabel 7.** Pengujian Lipinski of Rule Five

Senyawa	Parameter				
	LogP	Massa Molekul	Donor Ikatan	Akseptor Ikatan Hydrogen	Refraksi Molar
	≤ 5	≤ 500	≤ 5	≤ 10	40-130
Squalene	3,929	214	3	0	68
19-Hydroxycinnzeylanol 19-glucoside	-3,554	562	10	13	127
Dehydrophytosphingosine	1,241	222	0	4	56
Phytosphingosine	10,605	410	0	0	140

Senyawa	Parameter				
	LogP	Massa Molekul	Donor Ikatan	Akseptor Ikatan Hydrogen	Refraksi Molar
	≤ 5	≤ 500	≤ 5	≤ 10	40-130
2-Amino-1-hydroxyoctadec-4-en-3-one	3,415	298	4	2	88

Berdasarkan tabel 7, pengujian Lipinski's Rule of Five terhadap ligand pada empat senyawa yang terpilih dari binding affinity terbaik menunjukkan nilai LogP pada senyawa Squalene sebesar 3.929, 2-Amino-1-hydroxyoctadec-4-en-3-one sebesar 3.415, Dehydrophytosphingosine sebesar 1.241, dan 19-hydroxycinnzeylanol-19-glucoside sebesar -3.554, telah memenuhi syarat Lipinski rule of Five karena memiliki nilai LogP ≤5. Namun, senyawa Phytosphingosine tidak memenuhi

syarat karena memiliki nilai LogP >5 sebesar 10.605.

#### Prediksi Profil Farmakokinetik dan Toksisitas

Proses absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi (ADME) merupakan titik awal dari perjalanan obat di dalam tubuh. Prediksi ADME ini dilakukan melalui situs web pkCSM, yang menyediakan prediksi sifat ADMET untuk senyawa kimia baru dengan tingkat akurasi yang cukup tinggi (Nashihah, 2021).

**Tabel 8.** Hasil Uji Prediksi ADME dan Toksisitas Senyawa Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.)

Senyawa	Absorpsi	Distribusi	Metabolisme		Ekresi	Toksisitas
	Absorpsi pada usus (%)	BBB Permeability (log BBB)	CYP2D6 Inhibitor	CYP3A4 Inhibitor	Total Clearance (log/ml/min/kg)	Hepatotoksik
Squalene	90.341	0,981	Tidak	Tidak	1.791	Tidak
19-Hydroxycinnzeylanol 19-glucoside	17,732	-1,757	Tidak	Tidak	0.706	Tidak
Dehydrophytosphingosine	94,746	-1,299	Benar	Tidak	1.346	Tidak
Phytosphingosine	93.897	-1,389	Benar	Tidak	1.472	Tidak
2-Amino-1-hydroxyoctadec-4-en-3-one	91,121	-0,407	Benar	Tidak	1.376	Tidak

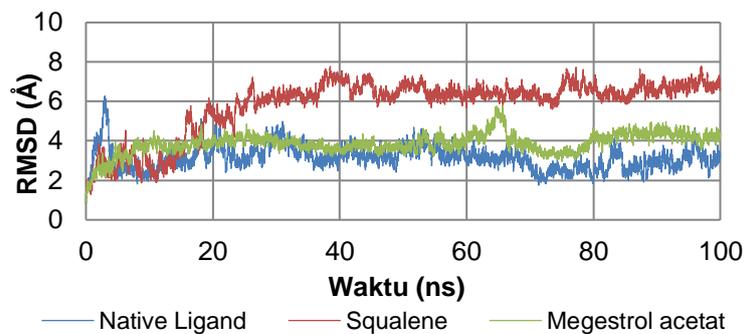
Berdasarkan tabel 8, pengujian profil farmakokinetik melalui website pkCSM menunjukkan bahwa terdapat empat senyawa dengan binding affinity terbaik yaitu Squalene, Dehydrophytosphingosine, Phytosphingosine, dan 2-amino-1-hydroxyoctadec-4-en-3-one memiliki profil absorpsi pada intestinal yang baik dengan persentase masing-masing 90.341% ; 94.746% ; 93.897% ; 91.121%

Sementara untuk senyawa 19-hydroxycinnzeylanol-19-glucoside memiliki profil absorpsi yang kurang baik, hanya mencapai persentase sebesar 17.732%. Absorpsi intestinal dikatakan baik jika persentase diatas 80% (Wibisono & Martino, 2023).

### Simulasi Dinamika Molekular Protein-Ligand Senyawa Uji Terbaik

Proses simulasi dinamika molekular dilakukan untuk memperoleh informasi yang lebih mendetail mengenai interaksi kompleks antara protein dan ligand dalam keadaan yang fleksibel (Amalia, 2019). Dalam penelitian ini, simulasi molekular dilakukan selama 10ns. Simulasi dinamika molekular dilakukan pada

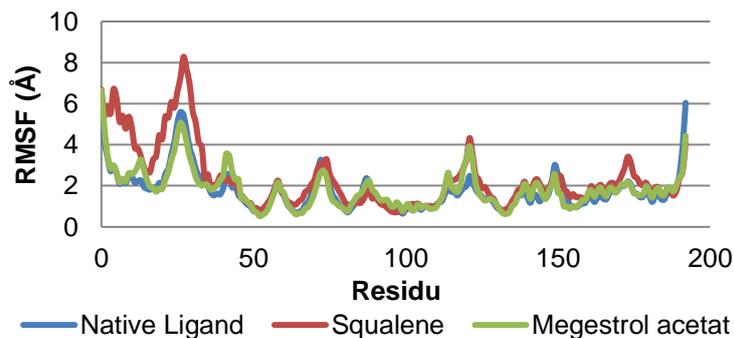
reseptor 5NWH, dengan obat pembanding megestrol cacetate dan senyawa terbaik seperti Squalene, 19-hydroxycinnzeylanol-19-glucoside, Dehydrophytosphingosine, Phytosphingosine, dan 2-amino-1-hydroxyoctadec-4-en-3-one. Simulasi ini dilakukan dengan bantuan Google Colab, Ambertools22, dan Notebook Jupyter.



**Gambar 10.** Grafik RMSD Native Ligand, Squalene dan Megestrol Acetat

Berdasarkan gambar 10, hasil analisis RMSD pada reseptor 5NWH terhadap protein-ligand menunjukkan bahwa senyawa Squalene

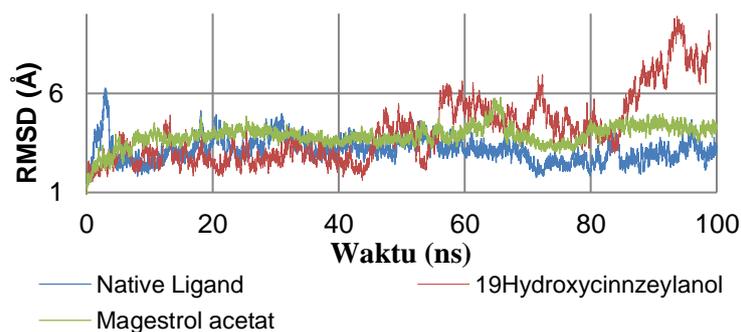
dinyatakan stabil karena berada pada rentang 0-20ns yang berdekatan dengan obat pembanding dan native ligand.



**Gambar 11.** Grafik Hasil RMSF Native Ligand, Squalene dan Megestrol Acetat

Berdasarkan gambar 11, hasil analisis RMSF dengan residu 0-200 menunjukkan bahwa native ligand memiliki rata-rata 1,7 Å, senyawa

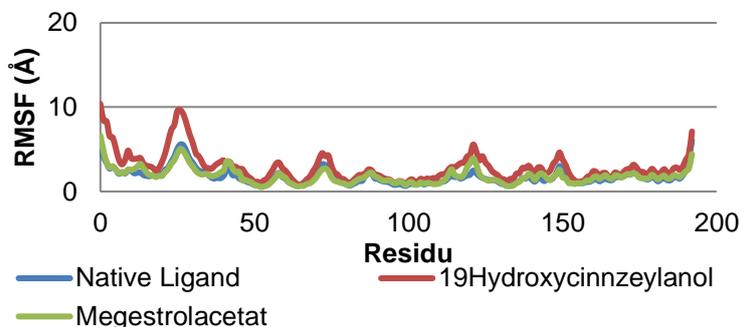
Squalene memiliki rata-rata 2,3 Å, dan obat pembanding megestrol acetate memiliki rata-rata 1,8 Å.



**Gambar 12.** Gambar RMSD Native Ligand, 19-Hydroxycinnzeylanol-19-glucoside dan Megestrol Acetat

Berdasarkan gambar 12, hasil analisis RMSD pada reseptor 5NWH terhadap protein-ligand menunjukkan bahwa ketiga senyawa

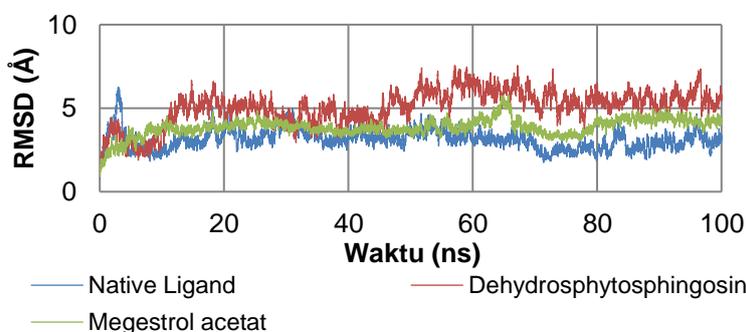
dinyatakan stabil karena berada pada rentang 0-40ns yang bersinggungan dengan obat pembanding dan native ligand.



**Gambar 13.** Grafik Hasil RMSF Native Ligand, 19-Hydroxycinnzeylanol-19-glucoside dan Megestrol Acetate

Berdasarkan gambar 13, rata-rata nilai RMSF dari ketiga senyawa tersebut adalah 2 Å. Simulasi ini dianggap tidak stabil, karena

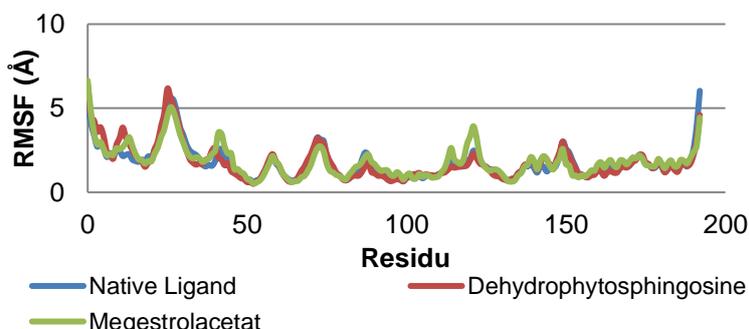
senyawa 19-Hydroxycinnzeylanol-19-glucoside memiliki rata-rata 2,5 Å.



**Gambar 14.** Grafik RMSD Native Ligand, Dehydrophytosphingosine dan Megestrol Acetat

Berdasarkan gambar 14, rata-rata nilai RMSD dari ketiga senyawa tersebut adalah 4 Å. Senyawa Dehydrophytosphingosine memiliki

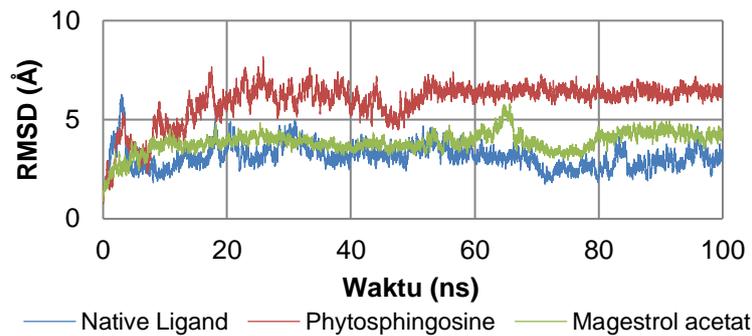
rata-rata 5 Å, native ligand 3,1 Å, dan obat pembanding megestrol acetate 3 Å. Simulasi ini dianggap tidak stabil.



**Gambar 15.** Grafik RMSF Native Ligand, Dehydrophytosphingosine dan Megestrol Acetat

Berdasarkan gambar 15, rata-rata nilai RMSF dari ketiga senyawa tersebut adalah 1,7 Å. Simulasi ini dianggap stabil, meskipun hasilnya

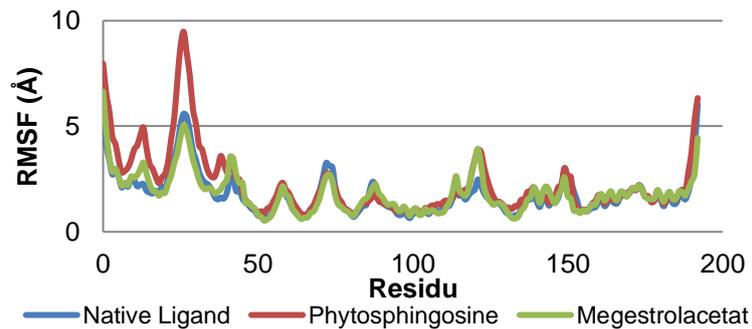
fluktuatif, karena senyawa 19-Hydroxycinnzeylanol-19-glucoside memiliki rata-rata yang sama, yaitu 1,7 Å.



**Gambar 16.** Grafik RMSD Native Ligand, Phytosphingosine dan Megestrol Acetat

Berdasarkan gambar 16, rata-rata nilai RMSD dari ketiga senyawa tersebut adalah 4,3 Å. Senyawa Phytosphingosine memiliki rata-rata

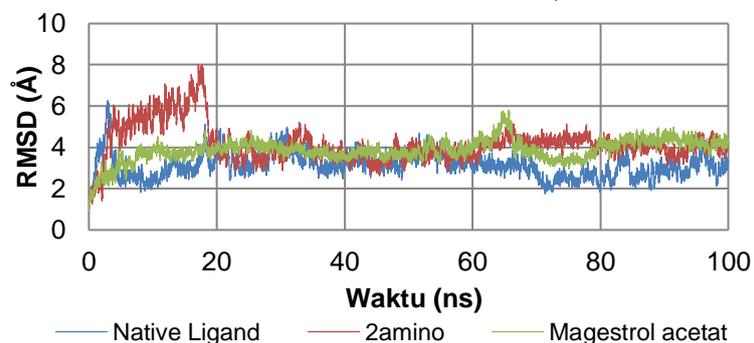
5,9 Å, native ligand 3,1 Å, dan obat perbandingan megestrol acetate 3 Å. Simulasi ini dianggap tidak stabil.



**Gambar 17.** Gambar RMSF Native Ligand, Phytosphingosine dan Megestrol Acetat

Berdasarkan gambar 17, rata-rata nilai RMSF dari ketiga senyawa tersebut adalah 1,9 Å.

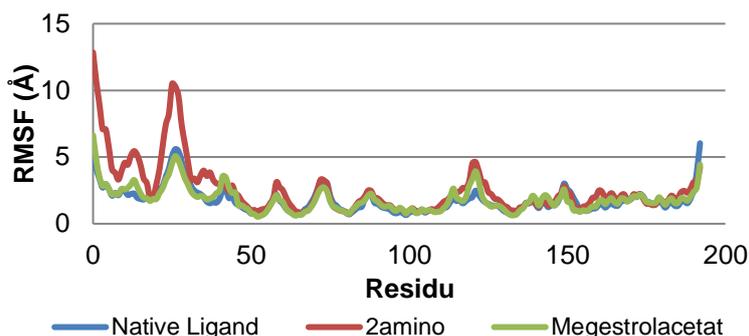
Simulasi ini dianggap stabil, karena senyawa Phytosphingosine memiliki rata-rata RMSF sebesar 2,2 Å.



**Gambar 18.** Gambar RMSD Native Ligand, 2-Amino-1-hydroxyoctadec-4-en-3-one dan Megestrol Acetat

Berdasarkan gambar 18, hasil analisis RMSD pada reseptor 5NWH terhadap protein-ligand menunjukkan bahwa ketiga senyawa mengalami kenaikan secara bertahap dengan

fluktuasi pada grafik. Senyawa 2-Amino-1-hydroxyoctadec-4-en-3-one dinyatakan stabil karena berada pada rentang 0-40ns.



**Gambar 19.** Gambar RMSF Native Ligand, 2-Amino-1-hydroxyoctadec-4-en-3-one, dan Megestrol Acetate

Berdasarkan gambar 19, hasil analisis RMSF dengan residu 0-200 dari ketiga senyawa tersebut ligand-reseptor uji terendah yaitu ada pada native ligand dengan rata-rata 1,7 Å. Semetara itu, senyawa 2-Amino-1-hydroxyoctadec-4-en-3-one memiliki rata-rata 2,5 Å, dan obat perbandingan megestrol acetate memiliki rata-rata 1,8 Å. Hal ini menunjukkan kestabilan ligand lebih baik dibandingkan obat perbandingan megestrol acetate dan senyawa 2-Amino-1-hydroxyoctadec-4-en-3-one.

### KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, ditemukan 43 senyawa yang diduga memiliki aktivitas antikanker payudara dan memiliki hubungan ikatan hidrogen dan hidrofobik pada daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). Dari jumlah tersebut, lima senyawa teridentifikasi memiliki nilai binding affinity yang lebih baik

dibandingkan senyawa lainnya berdasarkan validasi pada reseptor 5NWH, yaitu Squalene (-94,711), 19-hydroxycinnzeylanol-19-glucoside (-90,509), Dehydrophytosphingosine (-92,193), Phytosphingosine (-92,338), 2-amino-1-hydroxyoctadec-4-en-3-one (-90,732). Selain itu, senyawa Squalene, 19-hydroxycinnzeylanol-19-glucoside, 2-amino-1-hydroxyoctadec-4-en-3-one, dan Dehydrophytosphingosine telah memenuhi kriteria pengujian parameter Lipinski's Rule of Five. Namun, dari pengujian farmakokinetika dan toksisitas, kelima senyawa telah memenuhi syarat parameter uji. Hasil simulasi molecular dynamic dari masing-masing

senyawa uji terbaik, dengan Native Ligand 5NWH dan obat perbandingan megestrol acetate, pada pengujian 10ns menunjukkan bahwa senyawa Squalene, 19-hydroxycinnzeylanol-19-glucoside, dan 2-amino-1-hydroxyoctadec-4-en-3-one memiliki nilai RMSD yang stabil, sementara kelima senyawa menunjukkan nilai RMSF yang kurang stabil.

### UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih penulis sampaikan kepada semua pihak yang telah membantu sehingga penelitian ini dapat terselesaikan dengan baik.

### DAFTAR PUSTAKA

- Aziz, A., Andrianto, D., & Safithri, M. (2022). Penambatan Molekuler Senyawa Bioaktif Daun Wungu (*Graptophyllum Pictum* (L) Griff) Sebagai Inhibitor Tirosinase. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 9(2), 94.
- Hamzah, M. F., Amanah, A., & Lau, W. K. (2021). Isolation of active *Averrhoa bilimbi* phytochemicals corresponding to brown adipocytes stimulation. *F1000Research*, 10, 398..
- Islam, M. K., Barman, A. C., & Qais, N. (2020). Anti-Cancer Constituents from Plants: Mini Review. *Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences*, 19(1), 83–96.
- Kholifah, E., & Endah, E. (2022). Analisis Profil Fisika Kimia dan Farmakokinetik Senyawa Pentagamavunon-1 Secara Komputasi. *Duta Pharma Journal*, 2(1), 1-7.
- Nashihah, S. (2021). Studi Penambatan

- Molekuler Senyawa Flavonoid Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) Terhadap Sars-Cov-2 3cl Protease: Molecular Docking Study of Flavonoid Compounds The Guava Leaves (*Psidium guajava* L.) Against Sars-Cov-2 3CL Protease. *Medical Sains: Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 6(1), 9-24.
- Pratama, J. P., Kurniawati, N., & Erikania, S. (2023). UJI IN SILICO SENYAWA DAUN BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) SEBAGAI ANTIKANKER KOLOREKTAL SERTA PREDIKSI PROFIL FARMAKOKINETIK DAN TOKSISITAS. In *Prosiding Seminar Informasi Kesehatan Nasional*, 25-40.
- Pratiwi, D. (2021). Studi Molecular Docking Senyawa Dari Tanaman Kayu Manis (*Cinnamomum burmanni*) Sebagai Antidiabetes Pada Reseptor AlphaGlucosidase. *Jurnal Farmagazine*, 8(1), 61.
- 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.
- Sari, I. W., Junaidin, J., & Pratiwi, D. (2020). Studi Molecular Docking Senyawa Flavonoid Herba Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus* B.) Pada Reseptor  $\alpha$ -Glucosidase Sebagai Antidiabetes Tipe 2. *Jurnal Farmagazine*, 7(2), 54.
- Serlahwaty, D., & Giovani, C. (2021). In silico screening of mint leaves compound (*Mentha piperita* L.) as a potential inhibitor of SARS-CoV-2. *Pharm Educ*, 21, 81-6.
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209–249.
- Wibisono, N., & Martino, Y. A. (2023). Uji aktivitas antidiabetes kulit batang pulai (*Alstonia scholaris*) melalui studi in silico dan prediksi profil farmakokinetika. *Jurnal Ilmiah Biosaintropis (Bioscience-Tropic)*, 8(2), 59-64.