

**PENGEMBANGAN *IN*
SILICO SENYAWA TURUNAN KURKUMIN
UNTUK INHIBITOR *SPLEEN TYROSINE*
KINASE SEBAGAI KANDIDAT ANTIKANKER
LEUKIMIA**

LAPORAN TUGAS AKHIR

SITI NORRISCA DWININGSIH

13151036



**SEKOLAH TINGGI FARMASI BANDUNG
PROGRAM STUDI STRATA I FARMASI
BANDUNG**

2017

LEMBAR PENGESAHAN

**PENGEMBANGAN *IN SILICO* SENYAWA
TURUNAN KURKUMIN UNTUK INHIBITOR
SPLEEN TYROSINE KINASE SEBAGAI KANDIDAT
ANTIKANKER LEUKIMIA**

LAPORAN TUGAS AKHIR

Diajukan untuk memenuhi persyaratan kelulusan
Program Strata Satu

SITI NORRISCA DWININGSIH

13151061

Bandung, Agustus 2017

Menyetujui

Pembimbing Utama,

Pembimbing Serta,

(Hubbi Nashrullah M., M.Si.) Apt.)

(Deden Indra Dinata, M.Si., Apt.)

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi yang tidak dipublikasikan terdaftar dan tersedia di Perpustakaan Sekolah Tinggi Farmasi Bandung, dan terbuka untuk umum.

Referensi kepustakaan diperkenankan dicatat, tetapi pengutipan atau peringkasan hanya dapat dilakukan seizin pengarang dan harus disertai dengan kebiasaan ilmiah untuk menyebutkan sumbernya.

Memperbanyak atau menerbitkan sebagian atau seluruh skripsi haruslah seizin Ketua Program Studi di lingkungan Sekolah Tinggi Farmasi Bandung.

Dipersembahkan kepada kedua orangtua, adik-adik dan sahabat-sahabatku tercinta

ABSTRAK

PENGEMBANGAN *IN SILICO* SENYAWA TURUNAN KURKUMIN UNTUK INHIBITOR *SPLEEN TYROSINE KINASE* SEBAGAI KANDIDAT ANTIKANKER LEUKIMIA

Oleh
Siti Norrisca Dwiningsih
13151036

Kanker leukemia adalah penyakit yang ditandai dengan penimbunan sel darah putih abnormal, Sel abnormal ini dapat menyebabkan kegagalan sumsum tulang, perhitungan sel darah putih sirkulasi meninggi dan menginfiltrasi sel lain. Senyawa kurkumin memiliki aktivitas sebagai inhibitor *spleen tyrosine kinase* (SYK). Senyawa kurkumin merupakan senyawa bahan alam yang telah terbukti secara *in vitro* berpotensi terhadap pengobatan leukemia kronis dengan cara menginduksi apoptosis di CLL-B (*B-cell Chronic Lymptoc Leukemia*) melalui inhibisi SYK. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji interaksi 19 senyawa turunan kurkumin melalui inhibisi SYK(kode PDB: 4YJV) serta prediksi toksisitas pada tubuh manusia. Tahapan studi yang dilakukan diantaranya pengkajian parameter fisikokimia, simulasi *docking* terhadap reseptor SYK, simulasi molecular dinamik, dan prediksi toksisitas. Hasil simulasi *docking* senyawa turunan kurkumin terhadap reseptor SYK menghasilkan 9 ligan terbaik karena memiliki nilai energi bebas ikatan (ΔG) dan nilai konstanta inhibisi (K_i) yang rendah. Ligan 1A3 memiliki nilai yang paling rendah yaitu ΔG sebesar 10,05 kkal/mol dan K_i sebesar 42,32 nM. 9 ligan terbaik ini selanjutnya digunakan ke tahap proses simulasi Molekular Dinamik (MD). Hasil MD menunjukkan bahwa ligan 1A3 memiliki nilai RMSD yang baik dibandingkan dengan ligan lain yaitu $1.5 \pm 2 \text{ \AA}$ dan memiliki nilai RMSF paling baik yaitu $0,1 \pm 0,5 \text{ \AA}$ serta dapat menstabilkan pergerakan reseptor SYK. Tahap selanjutnya yaitu prediksi toksisitas juga menunjukkan bahwa ligan 1A3 memiliki resiko toksisitas yang paling rendah. Oleh karena itu ligan 1A3 merupakan ligan yang paling stabil dan paling rendah toksisitasnya dari ligan kurkumin yang lain sehingga berpotensi sebagai senyawa inhibitor SYK.

Kata Kunci: *Docking*, Kurkumin, Leukimia, *Molecular dynamic*, Prediksi Toksisitas, *Spleen Tyrosine Kinase*

ABSTRAK

DEVELOPMENT OF CURCUMIN DERIVATIVE FOR SPLEEN TYROSINE KINASE INHIBITOR AS ANTICANCER CANDIDATE OF LEUKEMIA BY IN SILICO

By

Siti Norrisca Dwiningsih

13151036

Leukemia is a cancer which characterized by the accumulation of abnormal white blood cells. These abnormal cells can cause by bone marrow failure, calculation of circulating white blood cells and infiltrate other cells. Curcumin has activity as a spleen tyrosine kinase inhibitor (SYK). Curcumin is a compound of natural ingredients that have been proven by in vitro potential for the treatment of chronic leukemia with inducing apoptosis in CLL-B (B-cell Chronic Leukemia Lymptoc) through inhibition of SYK. This study aims to examine the interactions of 19 curcumin derivative by SYK inhibition (PDB id: 4YJV) and prediction of toxicity in human body. The stages of study include the assessment of physicochemical parameters, molecular docking of SYK receptors, dynamic molecular simulations, and toxicity prediction. The result of docking simulation of curcumin derivative compound to SYK receptor yielded the best nine ligand because it has low free bond energy (ΔG) value and low inhibition constant (K_i) value. Ligand 1A3 has the lowest value i.e $\Delta G = 10.05$ kcal / mol and $K_i = 42.32$ nM. Furthermore, these nine best ligands were used to Dynamic Molecular simulation process (MD). MD results show that Ligand 1A3 had good RMSD value if compared to other ligand i.e 1.5 ± 2 Å and has the best RMSF value i.e $0,1 \pm 0.5$ Å , also can stabilize SYK receptor movement. The next stage is toxicity prediction process also shows that ligand 1A3 has the lowest toxicity risk. Therefore ligand 1A3 is the most stable ligand and the lowest toxicity of the other curcumin ligand. So, it potentially can be as SYK inhibitor.

Keywords: Docking, Curcumin, Leukemia, Molecular dynamic, Toxicity Prediction, Spleen Tyrosine Kinase

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah rabbil 'aalamin

Segala puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala rahmat, ridho, dan kasih sayang-Nya, serta shalawat dan salam selalu tercurah kepada Nabi Muhammad SAW, keluarga, sahabat, dan para pengikutnya sampai akhir zaman. Pada akhirnya penulis dapat menyelesaikan Laporan Tugas Akhir yang berjudul **PENGEMBANGAN *IN SILICO* SENYAWA TURUNAN KURKUMINUNTUK INHIBITOR *SPLEEN TYROSINE KINASE* SEBAGAI KANDIDAT ANTIKANKER LEUKIMIA** sebagai salah satu persyaratan kelulusan Program Strata Satu di Sekolah tinggi Farmasi Bandung.

Penyusunan laporan tugas akhir ini tentunya tidak akan terwujud tanpa bantuan dan dorongan dari berbagai pihak, untuk itu penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Kedua orang tua (Ibu Siti Noriyannah dan Bapak Supriyadi) dan keluarga tercinta yang telah memberikan semangat dan tak henti-hentinya bersimpuh berdo'a memohon kepada Allah SWT.
2. Hubbi Nashurullah Muhammad, M.Si. selaku pembimbing utama yang telah meluangkan waktu, pikiran dan perhatiannya untuk memberikan masukan dan ide-ide bermanfaat kepada penulis selama penyusunan proposal penelitian.
3. Deden Indra Dinata, M.Si., Apt. selaku dosen pembimbing serta yang juga telah banyak meluangkan waktu, memberikan petunjuk dan arahan yang sangat berarti bagi penulis.

4. Rekan-rekan satu bimbingan tim KIMED *jazakumullahu khairan* telah banyak membantu selama proses penelitian, dan keluarga besar S1 Ekstensi A Farmasi STFB Angkatan 2015 atas dukungan, semangat dan kebersamaan selama masa perkuliahan dan penelitian.
5. Seluruh Dosen dan Staf Sekolah Tinggi Farmasi Bandung atas bimbingan, ilmu, dan memberikan motivasi selama masa perkuliahan dan penelitian.
6. Semua pihak yang telah membantu, yang tidak dapat penulis tuliskan satu persatu.

Penulis menyadari sepenuhnya bahwa laporan tugas akhir ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun.

Akhir kata penulis berharap semoga laporan hasil tugas akhir ini bisa bermanfaat dan Allah senantiasa melindungi kita serta memberikan petunjuk-Nya disetiap langkah. Aamiin.

Bandung, Agustus 2017

Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK	i
<i>ABSTRACT</i>	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR LAMPIRAN	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR TABEL	ix
Bab I Pendahuluan.....	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Identifikasi Masalah	4
I.3 Tujuan Penelitian	4
I.4 Manfaat Penelitian	5
I.5 Tempat dan Waktu Penelitian	5
Bab II Tinjauan Pustaka	6
II.1 Kanker	6
II.1.1 Definisi Kanker	6
II.1.2 Leukimia	6
II.2.1 Pengertian Leukimia	6
II.2.2 Klasifikasi Leukimia	8
II.2.3 Patofisiologi	9
II.2.4 Gejala Klinis	10
II.2.5 Diagnosis	12
II.2.6 Pengobatan	13
II.3. <i>Spleen Tyrosine Kinase</i>	13
II.4 Kurkumin	14
II.5 <i>Studi In Silico</i>	17

II.6 <i>Molecular Docking</i>	17
II.7 Dinamika Molekul	19
II.8 Prediksi Toksisitas Secara <i>In Silico</i>	20
Bab III Metodologi Penelitian	21
Bab IV Alat, Perangkat Lunak, dan Bahan	22
IV.1 Alat	22
IV.2 Perangkat Lunak	22
IV.3 Bahan	22
Bab V Prosedur Penelitian	23
V.1 Pencarian Struktur dan <i>Binding Site</i> Reseptor SYK	23
V.2 Persiapan Ligan	23
V.2.1 Pembuatan Struktur Dua dan Tiga Dimensi	23
V.3 Penentuan Parameter Sifat Fisikokimia	27
V.3.1 Koefisien Partisi (Log P), Refraktifit Molar (MR) dan Bobot Molekul (BM)	27
V.4 Optimasi Geometri	28
V.5 Penentuan Parameter Fisikokimia Energi Ikatan (HOMO dan LUMO)	28
V.6 Penentuan Parameter Fisikokimia Muatan Parsial	28
V.7 Validasi Perangkat Lunak <i>Autodock4.2 (Metode Molecular Docking)</i>	29
V.7.1 Persiapan Reseptor	29
V.7.2 Persiapan Ligan	29
V.7.3 Pembuatan Berkas Grid Parameter	29
V.7.4 Pembuatan Berkas <i>Docking</i> Parameter	30
V.7.5 Melihat Hasil <i>Output</i> Nilai RMSD Hasil Validasi	30
V.8 <i>Docking</i> Senyawa Uji	30

V.8.1	Persiapan Senyawa Uji	30
V.8.2	Pembuatan Berkas Grid Parameter	31
V.8.3	Pembuatan Berkas Docking Parameter	31
V.8.4	Melihat Hasil Output Nilai RMSD	31
V.8.5	Melihat Nilai Energi Ikatan dan Ki	32
V.8.6	Interpretasi Data Hasil <i>Docking</i>	32
V.9	Simulasi <i>Molecular Dynamic</i> Senyawa Uji Terbaik dengan Software Gromacs	33
V.10	Prediksi Toksisitas Senyawa Uji menggunakan <i>software</i> <i>ADMET Predictor</i>	34
Bab VI	Hasil dan Pembahasan	36
VI.1	Pencarian Data Reseptor Spleen Tyrosine Kinase	36
VI.2	Penentuan Parameter Fisikokimia	36
VI.2.1	C Log P dan MR	37
VI.2.2	Penentuan Energi HOMO-LUMO dan Gap	40
VI.3	Optimasi Geometri Senyawa Uji	42
VI.4	Validasi Metode <i>Docking</i>	43
VI.4.1	Docking Senyawa Uji Turunan Kurkumin dengan reseptor SYK	44
VI.4.2	Analisis Interaksi Ikatan Hidrogen Senyawa terhadap Reseptor	46
VI.5	Simulasi <i>Molecular Dynamic</i> Senyawa Uji Terbaik	52
VI.5.1	Simulasi <i>Molecular Dynamic</i> Senyawa Uji Terbaik dengan 4YJV	53
VI.6	Uji Toksisitas	56
Bab VII	Kesimpulan dan Saran	76
DAFTAR PUSTAKA	78

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A Hasil Docking Ligan Uji Hydrogen	78
Lampiran B RMSD ligan uji dengan reseptor	82
Lampiran C RMSF ligan uji dengan reseptor	85

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar VI.1 RMSD protein dengan senyawa uji	53
Gambar VI.2 RMSD 4YJV dengan ligan uji 1A3.....	54
Gambar VI.3 RMSF protein dengan senyawa uji	55
Gambar VI.4 RMSF 4YJV dengan ligan uji 1A3	56

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel V.1 Singkatan, Struktur Dua Dimensi serta Nama Senyawa Turunan Kurkumin	24
Tabel VI.1 Lifobilitas senyawa uji	38
Tabel VI.2 MR	39
Tabel VI.3 Energi HOMO LUMO Dan <i>Energi Gap</i>	41
Tabel VI.4 Hasil Optimasi Geometri	43
Tabel VI.5 Binding Energy ΔG dan Ki.....	45
Tabel VI.6 Ikatan Antara Ligan Alami dengan SYK	47
Tabel VI.7 Ikatan Antara ligan senyawa uji dengan SYK.....	48
Tabel VI.8 Prediksi Toksisitas Endokrin.....	57
Tabel VI.9 Prediksi MRTD	59
Tabel VI.10 Prediksi Karsinogenitas dan Mutagenitas	61
Tabel VI.11 Prediksi Mutagenitas dengan AMES	63
Tabel VI.12 Prediksi Toksisitas Akut terhadap Tikus	66
Tabel VI.13 Prediksi Efek Samping Terhadap Hati Manusia	68
Tabel VI.14 Prediksi Toksisitas terhadap Jantung	70
Tabel VI.15 Prediksi Alergen Kulit dan Sensitisasi Pernafasan..	71
Tabel VI.16 Prediksi Toksisitas pada sistem Reproduksi	73

Bab I Pendahuluan

1.1 Latar Belakang

Penyakit kanker merupakan salah satu penyebab kematian utama di seluruh dunia. Pada tahun 2012, kanker menjadi penyebab kematian sekitar 8,2 juta orang. Berdasarkan Data *GLOBOCAN, International Agency for Research on Cancer (IARC)* diketahui bahwa pada tahun 2012 terdapat 14.067.894 kasus baru kanker dan 8.201.575 kematian akibat kanker di seluruh dunia.

Kanker adalah salah satu penyakit yang dapat terjadi pada anak. Kejadian kanker pada anak terus mengalami peningkatan dan menjadi salah satu penyebab kematian. Kematian akibat kanker di dunia akan terus meningkat jika kanker tidak ditangani dengan baik. Pada tahun 2030 diperkirakan ada 13,1 juta kematian yang akan terjadi akibat kanker (*World Health Organization, 2012*). Berdasarkan epidemiologi, diperkirakan pada tahun 2016 di Amerika Serikat terdapat 60.140 orang (34.090 laki-laki dan 26.050 perempuan) telah terdiagnosis menderita leukemia dan 24.400 orang akan meninggal dunia akibat leukemia (*American Cancer Society, 2016*). Di Indonesia, prevalensi leukemia mencapai hingga 4.342 orang (10,4%) (*Risikesdas. 2013*).

Menurut Menteri Kesehatan RI, dr.Nafsiah Mboi, Sp.A,MPH pada saat perayaan hari kanker sedunia 2013 di gedung siwabessy Kemenkes RI pada tanggal 21 februari 2013,tema “cancer – did you know ?” Kanker termasuk penyebab kematian tertinggi diseluruh dunia dan fakta menunjukkan jumlah kasus terus meningkat dari tahun

ke tahun. Di regional Asia Tenggara Kanker membunuh lebih dari 1,1 juta orang setiap tahun. Berdasarkan Sistem Informasi Rumah Sakit (SIRS) pada tahun 2010 di Indonesia Kanker menjadi penyebab kematian No.3. Sementara itu Kanker payudara dan Kanker leher rahim merupakan jenis Kanker tertinggi diantara kanker yang lainnya pada pasien rawat inap maupun rawat jalan diseluruh Rumah Sakit di Indonesia dengan proporsi sebesar :Kanker Payudara (28%), Kanker Serviks (12,8%), Leukimia (10,4%), Lymphoma (8,3 %), Kanker Paru (7,8 %). Sejalan dengan itu data empiris juga menunjukkan bahwa kematian akibat penyakit kanker dari tahun ke tahun terus meningkat.

Leukemia merupakan jenis kanker yang menyerang sel darah dan sumsum tulang belakang serta diklasifikasikan dalam 4 kelompok utama yaitu leukemia limfotik akut (ALL), leukemia limfotik kronis (CLL), leukemia mieloid akut (AML) dan leukemia mieloid kronis (CML) (Amanda *et al*, 2014).

Upaya penemuan obat kanker yang efektif dan selektif sebagai usaha pengobatan kanker secara kemoterapi menjadi sangat penting saat ini di-samping pengobatan secara fisik seperti pembedahan dan radioterapi. Pada umumnya obat kanker yang berasal dari senyawa kimia sintetik bekerja tidak selektif karena memiliki mekanisme kerja merusak DNA tidak hanya pada sel kanker tetapi juga pada sel normal disekitarnya. Curcuma longa, L (turmeric) dari famili Zingiberaceae oleh penduduk Asia dan khususnya di Indonesia, telah digunakan secara tradisional sebagai obat dan pencegah penyakit

kanker yang tidak menimbulkan efek toksik yang merugikan, salah satu kandungan senyawanya adalah kurkumin.

Dari beberapa penelitian dilaporkan bahwa kurkumin dan analognya mempunyai efek kemo-preventif dan kemoterapeutik. Selain aktivitas anti-kanker, kurkumin antara lain juga dapat berfungsi sebagai antioksidan, antiinflamasi, antiproliferasi dan pemacu proses apoptosis. Kurkumin memiliki potensial terapeutik untuk beberapa jenis kanker diantaranya kanker system pencernaan (esophageal, lambung usus, pancreas, kolonrektal), kanker urologik (saluran kemih, ginjal, prostat), kanker system reproduksi (serviks, ovarium, rahim), kanker hematologis (leukemia, limfoma, multiple myeloma) kanker payudara, kanker tulang, kanker otak, dan kanker paru-paru (shehzad, 2010)

Senyawa yang dapat menutup jalannya proliferasi sel kanker sangat potensial digunakan sebagai bahan obat antikanker. Kurkumin adalah senyawa yang dapat menghambat proliferasi pada beberapa jenis sel tumor termasuk diantaranya B-cell dan T-cell Leukemia, colon carcinoma, dan epidemoid carcinoma cells (Bharti *et al.*, 2003).

Studi terbaru menunjukkan bahwa SYK (*Spleen Tyrosine Kinase*) dapat menjadi sasaran antikanker yang menarik, seperti menghambat ekspresi SYK menginduksi apoptosis dan menghambat pembentukan tumor. Penghambatan SYK ditunjukkan untuk memperkenalkan apoptosis pada kanker seperti limfositik sel B leukemia (Cheng 2011).

Penelitian secara *in vivo* yang dilakukan pada mahluk hidup yaitu monyet reseptor SYK dapat menghancurkan klonik sel β sebesar

>99.9% . Dan adapun penelitian secara *in vitro* yang dilakukan pada mahluk hidup yaitu monyet reseptor SYK dapat menginduksi sinyal apoptosis pada sell klonik β (ARES Pharmaceuticals, LLC 2012). Dengan demikian, diperlukan penelitian lebih lanjut secara *in silico* terhadap senyawa turunan kurkumin untuk mengkonfirmasi, mengevaluasi dan mempelajari mekanisme kerjanya sebagai antileukemia melalui inhibisi SYK serta prediksi toksisitas senyawa turunan kurkumin. Sehingga senyawa turunan kurkumin menjadi pilihan dalam pengobatan leukemia menggunakan bahan alam dengan resiko efek samping yang minimum

1.2 Identifikasi Masalah

1. Studi interaksi dan afinitas struktur senyawa turunan kurkumin secara molekular dengan reseptor melalui penghambatan protein SYK (*Spleen Tyrosine Kinase*) untuk pengobatan leukemia belum diketahui.
2. Ligan uji terbaik diantara senyawa turunan kurkumin dan simulasi interaksinya terhadap reseptor SYK yang mendekati keadaan fisiologis tubuh belum diketahui.
3. Prediksi toksisitas dan keamanan senyawa turunan kurkumin apabila dikonsumsi pada tubuh manusia belum diketahui.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk:

1. Mengkaji interaksi dan afinitas struktur dari senyawa turunan kurkumin terhadap protein SYK untuk pengobatan leukemia melalui simulasi *docking*.

2. Memprediksi kestabilan interaksi antara senyawa turunan kurkumin (ligan) dengan reseptor SYK pada kondisi fisiologis tubuh melalui simulasi dinamika molekuler.
3. Memprediksi toksisitas dan keamanan senyawa turunan kurkumin didalam tubuh melalui metode komputasi.

1.4 Manfaat Penelitian

Mengetahui interaksi yang paling baik diantara senyawa turunan kurkumin dan kestabilannya pada kondisi fisiologis tubuh dengan aktifitasnya sebagai antileukimia melalui penghambatan reseptor SYK serta dapat memprediksi toksisitas dari senyawa turunan kurkumin untuk memberikan informasi terapi baru yang potensial terhadap leukemia.

1.5 Tempat dan Waktu Penelitian

Waktu penelitian akan dilakukan dari bulan Januari 2017 di Laboratorium Kimia Komputasi Sekolah Tinggi Farmasi Bandung Jl. Raya Soekarno Hatta No. 754 Cibiru Bandung.

Bab II Tinjauan Pustaka

II.1 Kanker

II.1.1 Definisi Kanker

Kanker ditandai dengan pembelahan sel yang tidak teratur, menghindari kematian sel, invasi jaringan, dan kemampuan untuk bermetastasis. Adanya invasi pertumbuhan dan jaringan yang tidak teratur adalah karakteristik neoplasma yang ganas. Kanker diklasifikasikan berdasarkan asal-usul mereka: kanker yang berasal dari jaringan epitel disebut karsinoma, kanker yang berasal dari jaringan mesenkim adalah sarkoma, dan kanker yang berasal dari jaringan hematopoietik adalah leukemia, limfoma, dan diskrasia sel plasma (termasuk *multiple myeloma*). Kanker muncul melalui serangkaian perubahan somatic dalam DNA yang mengakibatkan proliferasi sel yang tak terkendali. Sebagian besar perubahan ini melibatkan perubahan urutan yang sebenarnya diDNA (yaitu, mutasi). Mereka dapat berasal sebagai akibat dari kesalahan acak replikasi, paparan karsinogen (misalnya, radiasi), atau proses perbaikan DNA yang rusak (Clark & Longo, 2015).

II.1.2 Leukimia

II.2.1 Pengertian Leukimia

Leukemia adalah golongan penyakit yang ditandai dengan penimbunan sel darah putih abnormal dalam sumsum tulang. Sel abnormal ini dapat menyebabkan kegagalan sumsum tulang, hitung sel darah putih sirkulasi meninggi dan menginfiltrasi organ lain. Dengan demikian gambaran umum leukemia mencakup sel darah putih abnormal dalam darah tepi, hitung sel darah putih total

meninggi, bukti kegagalan sumsum tulang misalnya : anemia, neutropenia atau trombositopenia dan keterlibatan organ lain misalnya: Hati, limpa, limfonodi, meningen, otak, kulit dan testis.

Leukimia merupakan penyakit akibat terjadinya proliferasi (pertumbuhan sel imatur) sel leukosit yang abnormal dan ganas, serta sering disertai adanya leukosit dengan jumlah yang berlebihan, yang dapat menyebabkan terjadinya anemia trombositopenia (Hidayat, 2006). Leukemia merupakan penyakit keganasan yang paling sering pada anak-anak. Diperkirakan sebanyak 41% dari seluruh penyakit keganasan pada anak yang berumur kurang dari 15 tahun. Pada tahun 2002, tercatat sekitar 2500 anak dibawah umur 15 tahun didiagnosa dengan leukemia di Amerika. Insidensi sebesar 4,5 kasus per 100.000 anak (Greer J.P,2003)

Leukemia limfoblastik akut terhitung sebanyak 77% kasus leukemia pada anak. Leukemia mieloblastik akut sekitar 11%, leukemia mieloblastik kronik sekitar 2-3%, dan leukemia mieloblastik kronik juvenil sekitar 1-2% (American Cancer Society,2012)

Penyebab leukemia belum dapat diketahui secara pasti, tetapi terdapat beberapa factor resiko yang dapat menyebabkan leukemia, antara lain radiasi, faktor leukomogenik (racun lingkungan seperti benzena, bahan kimia industri seperti insektisida, obat untuk kemotradiasi), faktor herediter (penyakit Down-Syndrome) dan virus (retrovirus, virus leukemia felin dan *Human T Lymphotropic VirusI*) (Sunaryati, 2011)

II. 2.2 Klasifikasi Leukemia

Berdasarkan maturasi sel dan asal sel, leukemia dapat di klasifikasikan sebagai berikut:

1. Leukemia Akut

Leukemia akut adalah suatu proses proliferasi dari sumsum tulang yang immature. Sel-sel ini dapat melibatkan darah pada daerah tepi dan juga organ-organ padat. Persentase yang di temukan pada penegakan diagnosa leukemia akut berkisar 30% atau lebih (Abdul-Hamid G, 2011).

a. Leukemia limfoblastik akut

Leukemia limfoblastik akut adalah leukemia yang paling sering terjadi pada anak-anak. Diperkirakan sejumlah 30% dari kanker anak-anak. Data yang diperoleh dari *The National Cancer Institute's surveillance, Epidemiology, and End Result (SEER)* menyatakan bahwa leukemia limfoblastik akut pada anak-anak terjadi sebanyak 26 anak / 1.000.000 pertahun di Amerika Serikat (Greer J.P, 2003).

2. Leukemia mieloblastik akut

Leukemia mieloblastik akut adalah suatu keganasan hematologi yang ditandai dengan pembentukan dan penyebaran dari sel myeloid yang muda (Greer J.P, 2003).

3. Leukemia kronik

Leukemia kronik merupakan suatu penyakit yang ditandai proliferasi neoplastik dari salah satu sel yang berlangsung atau terjadi karena keganasan hematologi.

a. Leukemia Mieloblastik kronik (LMK)

LMK adalah gangguan mieloproliferatif yang ditandai dengan produksi berlebihan sel myeloid (seri granulosit) yang relatif matang.

LMK mencakup 20% leukemia dan paling sering dijumpai pada orang dewasa usia pertengahan (40-50 tahun). Abnormalitas genetik yang dinamakan kromosom philadelphia ditemukan pada 90-95% penderita LMK. Sebagian besar penderita LMK akan meninggal setelah memasuki fase akhir yang disebut fase krisis blastik yaitu produksi berlebihan sel muda leukosit, biasanya berupa mieloblas/promielosit, disertai produksi neutrofil, trombosit dan sel darah merah yang amat kurang (Greer J.P, 2003).

b. Leukemia Limfoblastik kronik (LLK)

LLK adalah suatu keganasan klonal limfosit B (jarang pada limfosit T). Perjalanan penyakit ini biasanya perlahan, dengan akumulasi progresif yang berjalan lambat dari limfosit kecil yang berumur panjang. LLK cenderung dikenal sebagai kelainan ringan yang menyerang individu yang berusia 50 sampai 70 tahun dengan perbandingan 2:1 untuk laki-laki dan perempuan (Greer J.P, 2003).

II.2.3 Patofisiologi

Leukemia terjadi dari proses mutasi tunggal dari sel progenitor pada sistem hematopoiesis yang menyebabkan sel mampu untuk berproliferasi secara tidak terkontrol yang dapat menjadi suatu keganasan dan sel prekursor yang tidak mampu berdiferensiasi pada sistem hematopoiesis (American Cancer Society,2012).

Pada leukemia, terjadi keganasan sel darah pada fase limphoid, mieloid, ataupun pluripoten. Penyebab dari hal ini belum sepenuhnya diketahui. Namun diduga berhubungan dengan perubahan susunan dari rantai DNA. Faktor eksternal juga dinilai mempengaruhi seperti bahan-bahan obat bergugus alkil, radiasi, dan bahan-bahan kimia.

Sedangkan faktor internal, yaitu kromosom yang abnormal dan perubahan dari susunan DNA(Wu,2010).

Perubahan susunan dari kromosom mungkin dapat mempengaruhi struktur atau pengaturan dari sel-sel onkogen. Leukemia pada sel limfosit B terjadi translokasi dari kromosom pada gen yang normal berproliferasi menjadi gen yang aktif untuk berproliferasi. Hal ini menyebabkan limfoblas memenuhi tubuh dan menyebabkan sumsum tulang gagal untuk berproduksi dan akhirnya menjadi pansitopenia (Wu,2010).

Seiring sumsum tulang gagal, sel-sel yang abnormal bersirkulasi dalam tubuh dan masuk ke organ-organ lain, seperti hati, limpa, dan mata. Gangguan pada sistemik ini menyebabkan perubahan pada kadar hematologi tubuh, terjadi infeksi oportunistik, iatrogenik karena komplikasi dari kemoterapi (Wu,2010).

II.2.4 Gejala klinis

Karena berlebihannya sel darah normal yang membentuk sel darah baru pada sumsum tulang belakang. Akibatnya tidak memiliki sel darah merah, sel darah putih, dan platelet yang cukup. Hal-hal tersebut dapat diketahui pada pemeriksaan darah, namun dapat juga menyebabkan suatu gejala.

Adapun beberapa tanda dan gejala yang ditimbulkan pada anak dengan leukemia adalah:

2.4.1. Lemah dan kulit yang pucat

Tanda-tanda ini merupakan tanda anemia (kurangnya sel darah merah).

2.4.2. Infeksi dan demam

Gejala yang sering ditimbulkan leukemia pada anak adalah demam. Hal ini sering disebabkan infeksi, bahkan hal ini tidak berpengaruh setelah diberikan antibiotik sekalipun

2.4.3. Mudah berdarah

Pada penderita leukemia sering terjadi mimisan, gusi berdarah, dan bahkan perdarahan besar pada luka gores yang kecil. Pada kulit terlihat bercak-bercak kemerahan yang disebabkan perdarahan pada pembuluh darah yang kecil. Hal ini disebabkan karena kurangnya platelet normal yang berfungsi memberhentikan perdarahan

2.4.4. Nyeri pada tulang atau sendi

Nyeri pada tulang dan sendi disebabkan penumpukan sel-sel darah muda pada tulang ataupun sendi.

2.4.5. Perut yang membesar

Gejala yang jelas terlihat adalah *hepatomegali* dan *splenomegali*. Hal ini terjadi karena penumpukan sel-sel leukemia menumpuk pada limpa dan hati.

2.4.6. Penurunan selera makan, penurunan berat badan

Gejala penurunan selera makan dan penurunan berat badan disebabkan pembesaran dari organ pada abdomen penderita. Sehingga banyaknya makanan yang bisa masukpun juga berkurang

2.4.7. Kelenjar limpa yang membesar

Sel-sel leukemia dapat menyebar pada kelenjar limpa. Hal ini menyebabkan terlihat pembengkakan pada leher, ketiak, atau tempat lainnya. Untuk mengetahui penyebab pasti biasanya dilakukan biopsi.

2.4.8. Batuk atau gangguan bernafas

Sel T limfosit pada leukemia juga melibatkan kelenjar timus yang berada di belakang sternum dan di depan trakea. Pembesaran dari kelenjar limf dapat menyebabkan batuk

2.4.9. Pembesaran pada wajah dan tangan

Pada leukemia, terjadi Superior Vena Cava (SVC) syndrome. Hal ini disebabkan karena pembesaran kelenjar timus yang dilalui oleh vena cava superior sehingga menyebabkan pembengkakan wajah dan tangan penderita

2.4.10. Nyeri kepala, kejang, muntah

Pada leukemia, terjadi penyebaran ke seluruh tubuh. Nyeri kepala yang di timbulkan karena sel-sel leukemia telah menyebar hingga otak. Selain itu pandangan kabur juga menjadi gejala leukemia yang menyebar hingga sistem saraf pusat

2.4.11. Ruam, masalah gusi

Pada penderita leukemia mieloblastik akut terjadi pembesaran gusi karena sel-sel leukemia menyebar pada gusi

2.4.12. Kelemahan pada alat gerak

Gangguan ini jarang ditemukan, namun hal ini terjadi karena penumpukan sel-sel leukemia yang sangat banyak pada ekstremitas (American Cancer Society, 2012).

II.2.5 Diagnosis

Diagnosis secara umum hampir sama untuk tipe leukemia, yaitu pemeriksaan apus darah tepi dan evaluasi sumsum tulang (pada LLA). Selain itu juga dilakukan pemeriksaan trombosit, hematokrit, dan limfoblas (Budi, 2003). Sedangkan untuk LMK dilakukan evaluasi hematologis/ perhitungan sel darah lengkap (Price, 1992)

dan untuk LLK umumnya dilakukan pemeriksaan limfositosis (Budi, 2003).

II.2.6 Pengobatan

Pengobatan leukemia bisa dilakukan dengan menggunakan obat kemoterapi dengan memberikan obat kanker atau sitostatika.

1. (LLA):prednison, vinkristin, antrasiklin, L-asparaginase (Sudoyo dkk, 2003)
2. (LMA):sitarabin dengan antrasiklin, daunorubisin, doksorubisin (Setiawan L, 2005)
3. (LLK):klorambusil, siklofosamid, vinkristin, fludarabin (Budi, F.J, 2003)
4. (LMK):busulfan dan hidroksiurea, antrasiklin, 6-tioguanin (Budi, F.J, 2003)

Pada jenis leukemia tertentu dilakukan terapi biologis untuk meningkatkan imunitas tubuh terhadap kanker. Bagi pasien dengan leukemia limfositik kronik menggunakan terapi biologis antibodi monoklonal yang akan meningkatkan pertahanan diri terhadap sel-sel leukemia. Bagi pasien dengan leukemia mieloid kronik menggunakan terapi biologis interferon untuk memperlambat pertumbuhan sel-sel leukemia (Sunaryati, 2011).

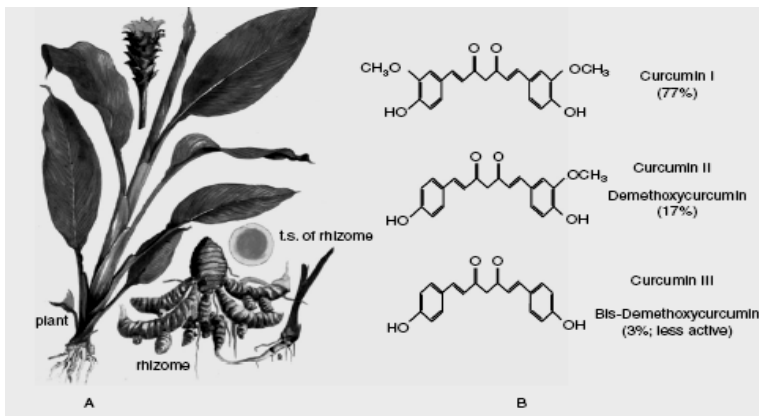
II.3. *Spleen Tyrosine Kinase*

Spleen Tyrosine kinase (SYK) mempunyai peran penting dalam koordinasi reseptor pengenalan imun dan mengatur berbagai proses dalam jalur berbagai jalur hematopoietik sel. penengah reseptor Sel B. sinyal SYK biasa pada daftar pertumbuhan dari jalur imunoreseptor yang memodulasi bawaan dan dapatkan respon imun.

SYK telah terlibat dalam keganasan pathogenesis yang termasuk garis B leukemia dan lymphoma. Penghambatan SYK mendorong apoptosis dari sel leukemia dan limfoma tapi telah lama dianjurkan bahwa SYK berkontribusi dalam melepas ikatan dari proliferasi dan diferensiasi dari sel myeloid. Aktivasi SYK juga bisa berperan penting dalam peningkatan regulasi dari anti apoptosis gens. Peran utama SYK dalam pathogenesis dari keganasan myeloid adalah menunjang perpaduan dari TEL [ada gen SYK dalam myelodisplasia dngan translokasi. Pentingnya perpaduan TELSUK merubah interleukin 3 dependen murine sel hematopoetic garis BaF3 sebagai faktor pertumbuhan yang independent (D'cruz Osmond J and Fatih M Uckun, 2012)

II.4 Kurkumin

Tumbuhan rempah-rempah sudah sejak lama dikenal kegunaannya untuk manusia, misalnya untuk memberi aroma, rasa pada makanan, untuk Dari beberapa penelitian dilaporkan bahwa kurkumin dan analognya mempunyai efek kemopreventif dan kemoterapeutik. Selain aktivitas antikanker, kurkumin antara lain juga dapat berfungsi sebagai antioksidan, antiinflamasi, antiproliferasi dan pemacu proses apoptosis (Meiyanto, 1999).



Gambar 1. Tumbuhan *Curcuma longa*, L. (A);
struktur komponen kurkumin (B).

(Sumber :Modifikasi dari Aggarwal *et.al*, 2005)

Kurkumin, dengan nama kimia (E,E)-1,7-bis(4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,6-heptadiena -3,5 dion) atau *bis- α , β -unsaturated β -diketone* (Basnet *et.al*. 2011) adalah senyawa polifenol hidrofobik yang merupakan turunan rhizoma dari tanaman *Curcuma longa* dan merupakan keluarga *Zingiberaceae* yang memberikan warna kuning (Devassy, 2015; Zlotogorski A., *et al*. 2013). Kurkuminoid juga dilaporkan berasal dari *C.aromatica*, *C.phaecaulis*, *C.zedoaria*, *C.xanthorrhiza*, *C.mangga* akan tetapi sumber utama kurkumin adalah *C.longa* (Basnet *et.al*, 2011; Aggarwal, 2007).

Sekitar 2-6 % serbuk kunyit adalah kurkuminoid, mengandung paling banyak 80% kurkumin, 18% demetoksikurkumin [4-

hidroksisinamoil-(4-hidroksi-3-metoksi sinamoil) metana], dan 2% *bis*-demetoksikurkumin [*bis*- (4-hidroksi sinamoil) metana] (Shehzad *et.al*, 2013). Kurkumin memiliki beberapa karakteristik antara lain rumus molekul $C_{21}H_{20}O_6$, berat molekul sebesar 368,37 g/mol, titik leleh sekitar 179-183 °C, λ_{max} kurkumin dalam metanol yaitu 430 nm dan dalam aseton 420 nm (Shehzad *et.al*, 2010 ; Aggarwal *et.al*, 2003).



Gambar 1. *Curcuma longa* Lsumber: (Siviero *et.al*, 2015)

Senyawa yang dapat menutup jalannya proliferasi sel kanker sangat potensial digunakan sebagai bahan obat antikanker. Kurkumin adalah senyawa yang dapat menghambat proliferasi pada beberapa jenis sel tumor termasuk diantaranya B-celldan T-cell Leukemia, colon carcinoma, dan epidemoid carcinoma cells (Bharti *et al.*, 2003).

Kurkumin merupakan molekul pleiotropik tinggi yang dapat berinteraksi dengan sejumlah molekul target, seperti protein, enzim, DNA, RNA dan molekul pembawa. Kombinasi dari interaksi hidrofobik, termasuk interaksi π - π , ikatan hidrogen yang luas, kelat logam, dan ikatan kovalen. Hal ini menyebabkan kurkumin memiliki kemampuan untuk menunjukkan aktivitas biologisnya baik secara

langsung berikatan dengan reseptor, atau secara tidak langsung mengatur reseptor.

II.4.1 Senyawa Turunan Kurkumin

Penelitian sebelumnya secara *in vitro* menunjukkan bahwa senyawa turunan kurkumin aktifitas terhadap leukemia akut yang ditunjukkan dengan nilai IC50 sebesar 0,8 $\mu\text{mol/L}$. Senyawa turunan kurkumin dapat menghambat P-glycoprotein (P-gp) yang termasuk dalam ATP-binding cassette (ABC) transporter family. ABC transporter family berperan dalam menghilangkan agen sitotoksik dari sel dan kemudian mencegah agen sitotoksik untuk mencapai target selular sehingga dapat menyebabkan terjadinya resistensi terutama Multi Drug Resistance (MDR) (Ooko et al, 2016)

II.5 *Studi In Silico*

Metode *in silico* digunakan sebagai komplemen metode *in vitro* dan *in vivo* yang lazim digunakan dalam proses penemuan obat. Terminologi *in silico*, analog dengan *in vitro* dan *in vivo*, merujuk pada pemanfaatan komputer dalam studi penemuan obat. Metode *in silico* memiliki ruang lingkup yang luas, beberapa diantaranya adalah studi *docking* untuk mempelajari interaksi antara ligan atau obat dengan protein target tertentu mempelajari aktivitas dan struktur dengan menggunakan statistik dan bioinformatika (mempelajari target obat yang berasal dari data genom) (Geldenhuys *et.al*, 2006).

II.6 *Molecular Docking*

Docking adalah metode untuk memprediksi orientasi antara satu molekul dengan molekul yang lain ketika berikatan untuk

membentuk suatu kompleks molekuler yang stabil. *Docking* bisa digunakan untuk mempelajari interaksi antara protein-ligan, protein-protein, protein-peptida, dan protein-nukleotida. Tujuan umum dari *docking* adalah untuk memprediksi orientasi ikatan antara molekul kecil (ligan) kandidat obat dengan protein target untuk memprediksi afinitas dan aktivitas dari ligan (Mukesh *et.al*, 2011).

Tahapan *docking* terdiri dari :

1. *Sampling*, yaitu pencarian posisi pada sisi aktif protein dan pencarian konformasi.

Langkah pertama merupakan pembentukan konformasi-konformasi ligan-protein yang disebut “posisi/pose” yang mungkin terjadi pada tempat ikatan protein

2. *Scoring*, yaitu memprediksi skor afinitas ikatan

Langkah kedua merupakan penilaian energi ikatan ligan dalam model konformasi untuk menentukan afinitas ikatan antara ligan dan protein. Skor penilaian yang diberikan pada masing-masing konformasi akan diurutkan dan senyawa aktif dengan skor tertinggi ditetapkan sebagai konformasi ligan-protein yang paling sesuai (Meng *et.al*, 2011).

Nilai yang diperoleh dari proses *docking* ini adalah energi bebas ikatan. Afinitas pengikatan merupakan ukuran kemampuan obat untuk berikatan pada reseptor. Semakin negatif nilai energi bebas ikatan berarti afinitas antara ligan dengan reseptor semakin tinggi begitu pula sebaliknya semakin positif nilai energi bebas ikatan berarti afinitas ligan dengan reseptor semakin rendah (Ruswanto, 2015). Analisis lebih lanjut terhadap hasil *docking* dapat berupa analisis interaksi antara ligan dan reseptor antara lain analisis ikatan

hidrogen, interaksi elektrostatik dan ikatan Van Der Walls (Syahputra, 2014)

II. 7 Dinamika Molekul

Simulasi dinamika molekul merupakan simulasi yang menganalisis perubahan struktur suatu senyawa sebagai fungsi waktu berdasarkan parameter-parameter tertentu. Dalam pengertian yang luas, dinamika molekul berkaitan erat dengan gerakan molekul pada proses-proses kimia (Pranowo, 2009). Simulasi dinamika molekul secara *in silico* dapat melakukan pekerjaan yang mustahil untuk dilakukan secara nyata di laboratorium seperti bekerja pada suhu atau tekanan yang ekstrim (Allen, 2004)

Simulasi dinamika molekul dilakukan dengan media computer yang memungkinkan untuk mempresentasikan interaksi molekul-molekul atom dalam jangka waktu tertentu. Teknik ini berdasarkan pada persamaan hukum Newton dan hukum mekanika klasik. Dinamika molekul mensimulasikan molekul-molekul yang saling menarik, mendorong dan menabrak satu sama lain. Simulasi dinamika molekul memberikan informasi statik dan dinamika pada skala atomic, seperti posisi dan kecepatan. Informasi ini lalu dapat diolah menjadi informasi pada skala makroskopis seperti tekanan, suhu dan lain-lain. Simulasi dinamika molekul dapat dilakukan dengan menggunakan program seperti Amber dan Gromacs (Farkhani, 2012)

Hingga kini simulasi dinamika molekul terus berkembang. Simulasi dinamika molekul digunakan untuk memperoleh informasi mengenai pergerakan suatu perubahan konformasi struktur suatu protein

maupun makromolekul biologis lainnya tiap satuan waktu. Melalui simulasi dinamika molekul ini pula, informasi kinetika dan termodinamika suatu protein dapat ditelusuri (Karpuls & Kuriyan, 2005)

II. 8 Prediksi Toksisitas Secara *In Silico*

Toksisitas adalah suatu ukuran yang menunjukkan efek yang tidak diinginkan atau merugikan dari suatu senyawa. Prediksi toksisitas secara *in silico* adalah pengujian toksisitas secara komputasi dengan menggunakan software computer untuk menganalisis, memvisualisasikan dan memprediksi toksisitas dari suatu senyawa sebagai pelengkap pengujian toksisitas secara *in vitro* maupun *in vivo*. Tujuan prediksi toksisitas secara *in silico* adalah untuk meminimalisir biaya, waktu, dan dapat memperkirakan toksisitas suatu senyawa kimia sebelum disintesis (Raies, B Arwa and Vladimir B. Bajic, 2016). Software yang dapat digunakan antara lain *Toxtree*, *Ecosar* dan ADMET Predictor.

Bab III Metodologi Penelitian

Studi afinitas dan interaksi senyawa dapat dilakukan dengan metode kimia komputasi (*in silico*). Masing-masing 19 senyawa uji dapat dilihat di lampiran dibuat pemodelan molekul 2D dan 3D. Parameter sifat fisikokimia dievaluasi dan dipilih berdasarkan relevansinya untuk menggambarkan aktivitas biologis senyawa uji. Selain itu dilakukan pendekatan *overlaying* antara struktur senyawa uji dengan struktur senyawa pembanding untuk mendeskripsikan kemiripan geometris struktur senyawa uji.

Optimasi geometri dilakukan dengan metode *Density Functional Theory (DFT)* terhadap masing-masing senyawa uji. Validasi metode *molecular docking* dilakukan dengan cara kalkulasi nilai *Rate Mean Square Deviation (RMSD)*. Masing-masing senyawa uji di *docking*-kan untuk mengetahui *scoring* energi bebasnya (*Gibbs Energy/ ΔG /Ascore*) dan nilai konstanta inhibisi (k_i) serta dilihat interaksi ligan-reseptor dan hubungan ikatan obat dengan aktivitasnya.

Nilai konstanta inhibisi (k_i) dan interaksi paling baik dengan reseptor untuk memperoleh data kestabilan interaksi dari waktu ke waktu. Kemudian dilakukan prediksi toksisitas untuk mengetahui keamanan dari 19 senyawa uji