

BAB II. Tinjauan Pustaka

II.1. Kanker

Kanker merupakan satu kelompok besar penyakit yang dapat mempengaruhi setiap bagian dari tubuh. Istilah lain yang digunakan adalah tumor ganas dan neoplasma. Salah satu fitur mendefinisikan kanker adalah pertumbuhan sel-sel baru secara abnormal yang tumbuh melampaui batas normal, dan yang kemudian dapat menyerang bagian sebelah tubuh dan menyebar ke organ lain (WHO, 2009).

National Cancer Institute (2009) berpendapat bahwa, kanker adalah suatu istilah untuk penyakit di mana sel-sel membelah secara abnormal tanpa kontrol dan dapat menyerang jaringan di sekitarnya. Proses ini disebut metastasis, metastasis merupakan penyebab utama kematian akibat kanker. Kanker istilah umum yang dipakai untuk menunjukkan neoplasma ganas, dan ada banyak tumor atau neoplasma lain yang tidak bersifat kanker (Price *et al.*, 2006). Neoplasma secara harfiah berarti “pertumbuhan baru”. Suatu neoplasma, sesuai definisi Wills, adalah massa abnormal jaringan yang pertumbuhannya berlebihan dan tidak terkoordinasikan dengan pertumbuhan jaringan normal serta terus demikian walaupun rangsangan yang memicu perubahan tersebut telah berhenti.

Pengobatan kanker dapat dilakukan dengan cara (Gary *et al*, 2001):

1. Pembedahan

Dalam metode pembedahan, bagian tubuh yang terinfeksi sel kanker diambil. Jaringan sehat dan saluran-saluran yang ada disekitarnya juga diambil untuk mencegah penyebaran sel kanker.

2. Strategi *Antigen agent* dan *triplex agent*

Untuk menemukan obat yang menghambat protein berhubungan dengan terjadinya penyakit terus berjalan. Akhir-akhir ini peneliti mencari target yang lain, yaitu asam nukleat (DNA dan RNA). menemukan obat yang dapat berikatan dengan asam nukleat yang terlibat dalam sintesis protein yang berhubungan dengan terjadinya penyakit. Obat tersebut adalah untai dari DNA sintesis yang disebut *antigen agent* dan *triplex agent*. Obat ini secara potensial dapat menyerang sel kanker dengan tidak membahayakan sel lain.

3. Imunterapi Kanker

Sistem imun telah diketahui sejak lama dapat menyerang kanker. Sel tumor cukup berbeda dengan sel normal, sehingga sistem imun dapat mengenal dan merusak sel kanker. Kanker pada manusia acapkali mengalami regresi spontan, yang ditimbulkan oleh respons imun yang merusak sel kanker, namun yang seringkali terjadi adalah *immune surveillance* mengeliminasi sel kanker, sehingga sel kanker akan berkembang terus dan membentuk tumor yang mengancam kehidupan manusia (Williams, 1996).

4. Terapi Gen untuk Kanker

Pada awalnya terapi gen dikonsep sebagai alat atau sarana mengkoreksi penyakit genetik, khususnya penyakit yang diturunkan dalam bentuk resesif autosomal dan menyebabkan mortalitas yang

signifikan. Terapi gen adalah suatu metode pengobatan dengan cara memasukkan gen asing ke dalam sel target yang memiliki gen cacat. Terapi gen secara umum mengirimkan beberapa instruksi dalam bentuk rangkaian DNA ke sel-sel yang, sehingga akan menghasilkan protein terapeutik. Ada tiga tujuan penerapan terapi gen, yaitu memperbaiki fungsi normal sel atau jaringan, memperbaiki kerusakan gen dan menambah fungsi baru ke dalam sel. Terapi ini sangat memungkinkan dilakukan, karena virus, bakteri, tumbuhan dan manusia memiliki kode genetik yang sama. Terapi gen pada kanker dapat dilakukan dengan dua metode yaitu metode *ex vivo* dan metode *in vivo*.

5. Terapi Radiasi

Dalam proses pengobatan dengan radioterapi, sinar berenergi tinggi difokuskan sehingga membentuk suatu berkas seperti mata pisau yang digunakan untuk menghancurkan sel-sel kanker dan menghentikan reproduksinya. Terapi lokal ter sebut digunakan untuk memperkecil jaringan kanker sebelum atau sesudah operasi pengangkatan jaringan, dan juga berfungsi untuk membunuh sel kanker yang masih tersisa.

6. Kemoterapi

Kemoterapi adalah metode terapi kanker dengan pemberian obat-obatan dalam jangka waktu tertentu untuk menghambat dan menghentikan aktivitas proliferasi sel kanker. Obat-obatan tersebut pada umumnya menyebar melalui darah dan mencegah pembelahan sel baik sel normal maupun sel kanker di seluruh bagian tubuh.

II.2 Ovarium

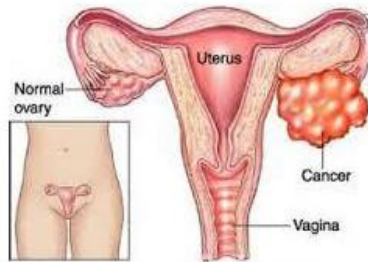
Ovarium merupakan kelenjar berbentuk buah kenari terletak di kiri dan kanan uterus, di bawah tuba *uterine* dan terikat di sebelah belakang oleh ligamentum latum uterus. Setiap bulan folikel berkembang dan sebuah ovum dilepaskan pada saat kira-kira pertengahan (hari ke-14) siklus menstruasi. Ovulasi yaitu pematangan folikel graaf dan mengeluarkan ovum. Bila folikel graaf sobek, maka terjadi penggumpalan darah pada ruang folikel. Ovarium mempunyai 3 fungsi, yaitu: memproduksi ovum, memproduksi hormon estrogen dan memproduksi hormon progesteron.

Ovarium disebut juga indung telur, didalam ovarium ini terdapat jaringan bulbus dan tubulus yang menghasilkan telur (ovum) dan ovarium ini hanya terdapat pada wanita, letaknya di dalam pelvis di kiri kanan uterus, membentuk, mengembang serta melepaskan ovum dan menimbulkan sifat-sifat kewanitaan, misalnya: pelvis yang membesar, timbulnya siklus menstruasi. Bentuk ovarium bulat telur beratnya 5-6 kg, bagian dalam ovarium disebut *medulla ovary* di buat di jaringan ikat, jaringan yang banyak mengandung kapiler darah dan serabut kapiler saraf, bagian luar bernama korteks *ovary*, terdiri dari folikel-folikel yaitu kantong-kantong kecil yang berdinding epithelium dan berisi ovum (Gondo and Harry K. 2011).

II.3 Kanker Ovarium

Kanker ovarium adalah terjadinya pertumbuhan sel-sel tidak lazim pada satu atau dua bagian indung telur atau keganasan yang berasal dari ovarium dalam tiga bentuk sel yang berbeda yaitu, sel germinal,

sel epitel dan sel stroma dimana ketiga bentuk tersebut hadir dengan ciri-ciri yang berbeda (Marie, 2016).



Gambar II.1: Kanker Ovarium (Marie, 2016).

Kanker indung telur atau kanker ovarium adalah tumor ganas pada ovarium (indung telur) yang paling sering ditemukan pada wanita berusia 50-70 tahun. Kanker ovarium bisa menyebar ke bagian lain, panggul, dan perut melalui kelenjar getah bening dan melalui sistem pembuluh darah dapat menyebar ke hati dan paru-paru. Kanker ovarium sangat sulit didiagnosa dan kemungkinan kanker ovarium ini merupakan awal dari banyak kanker primer. Kanker ovarium berasal dari sel-sel yang menyusun, yaitu sel epitel, sel germinal, dan sel stromal. Sel kanker dalam ovarium juga dapat berasal dari metastasis organ lainnya terutama sel kanker payudara dan kanker kolontapi tidak dapat dikatakan sebagai kanker ovarium.

Klasifikasi kanker ovarium, terdiri dari (Gondo and Harry K. 2011):

1. Tumor *Epithel*

Tumor epitel ovarium berkembang dari permukaan luar ovarium, umumnya jenis tumor yang berasal dari epitel adalah jinak, karsinoma adalah tumor ganas dari *Epithel Ovarium Carcinomas* (EOC) merupakan jenis tumor yang paling sering (85-90%) dan penyebab kematian terbesar dari jenis kanker ovarium.

Gambaran tumor epitel yang secara mikroskopis tidak jelas teridentifikasi sebagai kanker dinamakan sebagai tumor *borderline* atau tumor yang berpotensi ganas.

2. Tumor Germinal

Tumor sel germinal berasal dari sel yang menghasilkan ovum atau sel telur, umumnya tumor germinal adalah jinak meskipun beberapa menjadi ganas. Bentuk keganasan sel germinal terutama adalah teratoma, dysgerminoma dan tumor sinus endodermal. Insiden keganasan tumor germinal terjadi pada usia muda kadang di bawah usia 20 tahun.

3. Tumor Stromal

Tumor ovarium stromal berasal dari jaringan penyokong ovarium yang memproduksi hormon estrogen dan progesteron. Jenis tumor ini jarang ditemukan, bentuk yang didapati berupa tumor techa dan tumor sel *sartoli-leydig* termasuk kanker dengan derajat keganasan yang rendah.

Penyebab kanker ovarium belum diketahui secara pasti. Akan tetapi, banyak teori yang menjelaskan tentang etiologi kanker ovarium. Adapun penyebab dari kanker ovarium, yaitu (Gondo and Harry K. 2011):

a. Hipotesis *incessant ovulation*

Teori meyakini bahwa terjadi kerusakan pada sel-sel epitel ovarium untuk penyembuhan luka pada saat terjadi ovulasi. Proses penyembuhan Sel-sel epitel yang terganggu dapat menimbulkan proses transformasi menjadi sel-sel tumor. Paritas adalah banyaknya kelahiran hidup atau jumlah anak yang dimiliki oleh seorang wanita. Dalam paritas terjadi pelepasan sel ovum dari ovarium sehingga menyebabkan produksi estrogen untuk proliferasi epitel ovarium.

Walaupun ada beberapa hipotesis yang menghubungkan antara paritas dengan kanker ovarium namun etiologi paritas dengan kanker ovarium belum begitu jelas. Beberapa hipotesis mengungkapkan bahwa tingginya paritas justru menjadi faktor protektif terhadap kanker ovarium, salah satunya adalah hipotesis *incessant ovulation* yang menyebutkan bahwa pada saat terjadinya ovulasi akan terjadi kerusakan pada epitel ovarium. Untuk proses perbaikan kerusakan ini diperlukan waktu tertentu. Apabila kerusakan epitel ini terjadi berkali-kali terutama jika sebelum penyembuhan sempurna tercapai, atau dengan kata lain masa istirahat sel tidak adekuat, maka proses perbaikan tersebut akan mengalami gangguan sehingga dapat terjadi transformasi menjadi sel-sel neoplastik. Hal ini dapat menjelaskan bahwa wanita yang memiliki paritas 2 kali akan menurunkan risiko terkena kanker ovarium.

b. Hipotesis Androgen

Androgen mempunyai peran penting dalam terbentuknya kanker ovarium. Hal ini didasarkan dari hasil percobaan bahwa epitel ovarium mengandung reseptor androgen. Dalam percobaan *in vitro*, androgen dapat menstimulasi pertumbuhan epitel ovarium normal dan sel-sel kanker ovarium.

II.4 Klasifikasi Obat Kanker

Macam-macam obat kemoterapi (Tuan Zea et al, 2008):

1. Obat golongan *Alkylating agent*, platinum Compounds, dan Antibiotik Anthrasiklin obat golongan ini bekerja dengan antara lain mengikat DNA di inti sel, sehingga sel-sel tersebut tidak bisa melakukan replikasi.

2. Obat golongan Antimetabolit bekerja langsung pada molekul basa intisel, yang berakibat menghambat sintesis DNA dan RNA.
3. Obat golongan Topoisomerase-inhibitor dan Taxanes bekerja pada gangguan pembentukan tubulin, sehingga terjadi hambatan mitosis sel.
4. Obat golongan Enzim seperti, L-Asparaginase bekerja dengan menghambat sintesis protein, sehingga timbul hambatan dalam sintesis DNA dan RNA dari sel-sel kanker tersebut

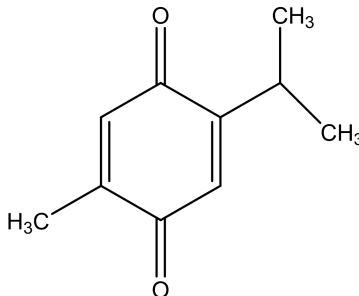
II.5 Klasifikasi Tanaman

Jintan hitam merupakan tanaman herbal berbunga tahunan. Tanaman jintan hitam merupakan tanaman semak dengan ketinggian lebih kurang 30 cm. Ekologi dan penyebaran tanaman ini tumbuh mulai dari daerah Levant, kawasan Mediterania timur sampai ke arah timur Samudera Indonesia, dan dikenal sebagai gulma semusim dengan keanekaragaman yang kecil. Budidaya perbanyakan tanaman dilakukan dengan biji (Achyad dan Rasyidah 2000).

Klasifikasi jintan hitam menurut Hutapea (1994) adalah:

Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae
Ordo	: Ranunculales
Famili	: Ranunculaceae
Genus	: <i>Nigella</i>
Spesies	: <i>Nigella sativa</i> L

II.6 Mekanisme Senyawa Timokuinone sebagai Anti Kanker



Gambar II.2: Struktur Timokuinon.

Timokuinon merupakan komponen mayor dari jinten hitam atau salah satu hasil ekstrak minyak *Nigella sativa* memiliki efek kemoterapi dan kemoprevensi yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker dan membunuh sel kanker ovarium tersebut dengan meningkatkan program kematian sel.

Fenomena defisiensi estrogen dapat diatasi dengan memanfaatkan tumbuhan yang mudah diperoleh. Tumbuhan yang dapat dijadikan sumber estrogen eksternal disebut fitoestrogen. Fitoestrogen merupakan dekomposisi alami dalam tumbuhan yang memiliki banyak kesamaan dengan estradiol, suatu bentuk alami estrogen yang paling poten (Jefferson *et al.*, 2002). Berdasarkan penelitian *in vivo*, jinten hitam *Nigella sativa* L diketahui berpotensi sebagai fitoestrogen (Parhizkar *et al.*, 2011).

Fungsi fisiologis senyawa estrogenik dimodulasi sebagian besar oleh reseptor estrogen subtipe alfa (ER α). Protein ini memiliki aksi dalam nukleus sel, mengatur transkripsi gen target spesifik dengan mengikat urutan DNA terkait.

II.7 Timokuinon turunan dari *Nigella sativa L.*

TQ-analog bersifat relatif aman, upaya peningkatan aktivitas antiproliferatif dan peningkatan kelarutan untuk meningkatkan bioavailabilitasnya. TQ memiliki potensi terapi dalam manajemen kesehatan manusia kesehatan serta dalam pencegahan kanker melalui modulasi kaskade genetik. TQ menunjukkan peran penting dalam mengendalikan kanker melalui aktivasi penekan tumor. antikanker aktif turunan dari Timokuinon menunjukkan peran dalam antagonis reseptor estrogen α yang terkait dengan dengan tangga DNA

Ada dua reseptor estrogen yang dikenal yaitu reseptor estrogen alpha (ER- α) dan estrogen reseptor beta (ER- β). Kedua reseptor mengandung DNA-binding, hormone-binding. Estrogen akan masuk ke dalam sel, tapi hanya sel yang mengandung reseptor estrogen yang akan merespon (Beshay, 2013).

II.8 Metode Komputasi

Kimia komputasi mendeskripsikan struktur molekul sebagai model numerik dan merangsang perilaku dengan persamaan kuantum dan fisika klasik. *Software* yang digunakan dapat memudahkan ilmuwan dalam menyajikan data molekul termasuk geometrik, energi dan sifat yang terkait (elektronik, spektroskopik dan sifat yang lain). kimia komputasi dapat menghasilkan gambaran struktur dalam berbagai model dan memiliki aktivitas yang sama dengan penyamaan kuantum dari fisika klasik. Perkembangannya terutama dalam penerapan perhitungan kimia kuantum yang berlangsung dengan pesat memungkinkan untuk dilakukannya permodelan

molekul dan eksplorasi sifat fisika-kimia suatu struktur molekul (Azizah dkk., 2013).

Terdapat dua pendekatan dalam perancangan obat dengan kimia komputasi, yaitu rancangan obat berbasis struktur (*structure based drug design/ SBDD*) dan rancangan obat berbasis ligan (*ligand based drug design/ LBDD*). SBDD merupakan pendekatan yang digunakan ketika informasi struktur dari target obat dimanfaatkan untuk mengembangkan inhibitorynya, sehingga struktur reseptor harus sudah diketahui terlebih dahulu *Molecular Docking* merupakan metode yang sering digunakan dengan pendekatan ini. Sedangkan LBDD merupakan pendekatan yang dapat digunakan tanpa adanya informasi reseptor 3D dan bergantung pada pengetahuan pengikatan molekul pada target biologi yang diinginkan. HKSA dan pemodelan farmakofor merupakan metode yang sering digunakan dalam desain obat berbasis ligan (Aparoy *et al.*, 2012).

II.9 Hubungan Kuantitatif Struktur Aktivitas (HKSA)

HKSA adalah korelasi matematis antara aktivitas biologis atau properti molekuler tertentu dari satu atau lebih sifat struktural pada fisikokimia dan molekul, yang dikenal sebagai deskriptor karena menggambarkan aktivitas atau properti yang sedang diperiksa (Dearden, 2017).

HKSA juga dipengaruhi oleh pemilihan deskriptor yang tepat. Setelah suatu seri senyawa dipelajari hubungan struktur dan nilai aktivitasnya, maka diperlukan sifat - sifat fisika dan kimia apa saja yang kontribusi terhadap aktivitas biologis senyawa tersebut. Tujuan utama HKSA yaitu membuat persamaan model HKSA yang

mengambarkan sifat dari rangkaian senyawa tersebut. Untuk mendapatkan model tersebut diperlukan pemilihan data set dari beberapa model molekul yang sudah di ketahui nilai aktivitas biologisnya dari data ekperimental. Aktivitas biologis suatu obat diperoleh setelah terjadi interaksi senyawa dengan molekul spesifik dalam obyek biologis. Interaksi tersebut ditunjang dengan spesifisitas sifat kimia fisika senyawa yang tinggi. Aktivitas obat berhubungan dengan sifat kimia fisika obat, dan merupakan fungsi dari struktur molekul obat (Kubinyi, 1993).

Hubungan antara struktur suatu senyawa dengan aktivitas biologisnya dapat dinyatakan secara matematis, sehingga sering disebut HKSA. Pendekatan hubungan struktur dan aktivitas biologis mulai berkembang dengan pesat setelah tahun 1960-an dipelopori oleh Corwin Hansch dan kawan-kawan yang menghubungkan struktur kimia dan aktivitas biologis obat melalui sifat-sifat kimia fisika umum seperti kelarutan dalam lemak, derajat ionisasi, atau ukuran molekul. Setelah itu hubungan kuantitatif antara aktivitas biologis dan parameter yang menggambarkan perubahan sifat kimia fisika, yaitu terdiri parameter hidrofobik, elektronik dan sterik. Hubungan atau korelasi yang baik digunakan untuk menunjang model interaksi obat-reseptor dan meramalkan jalur sintesis obat yang lebih menguntungkan (Siswandono dan Soekarjo, 2000).

II.10 Optimasi Geometri

Optimasi geometri atau optimasi energi merupakan suatu langkah untuk mendapatkan struktur dengan energi minimal atau terendah dari suatu molekul. Struktur dengan energi terendah dapat diinterpretasikan sebagai sistem dengan keadaan yang stabil di alam

(Leach, 2001). Optimasi geometri merupakan media komputasi yang dimaksudkan untuk mengetahui sifat fisikokimia dari suatu senyawa uji. Optimasi geometri biasanya digunakan untuk mengetahui nilai parameter elektronik. Metode komputasi *Density Functional Theory* (DFT) sering dipilih karena memodelkan sistem molekul dengan akurat dan memberikan data dalam tingkat mikroskopik yang berkorelasi signifikan dengan hasil eksperimen laboratorium. Penentuan basis set yang digunakan juga sangat penting karena merupakan acuan kalkulasi *software* dalam menghitung besaran parameter yang diinginkan. Salah satu basis set yang sering digunakan adalah 6-31G. Notasi 6-31G menandakan di dalam set basis ini terdapat enam fungsi Gaussian yang mewakili orbital, tiga fungsi Gaussian untuk orbital elektron valensi bagian yang berkontraksi, dan satu untuk bagian yang berdifusi (Pamungkas, 2013).

II.11 Model Pendekatan Free-Wilson

Model Free-Wilson atau model *de novo* dikembangkan oleh Free dan Wilson. Metode ini didasarkan pada perkiraan bahwa masing-masing substituen pada struktur senyawa induk memberikan sumbangan yang tetap pada aktivitas biologis. Sumbangan ini bersifat aditif dan tidak bersifat sumbangan substituen yang lain. Model Free-Wilson mengajukan model matematik yang memperkirakan bahwa aktivitas biologis sama dengan jumlah sumbangan substituen ditambah aktivitas biologi senyawa induk (Free-Wilson, 1964).

$$\text{Log } 1/C = k_1(X_i) + k_2(Y_i) + k_3(Z_i) + k_4 \quad (\text{II.1})$$

Notasi C menyatakan konsentrasi senyawa obat ke-i yang akan memberikan respon biologis tertentu. Untuk (X_i) , (Y_i) , dan (Z_i) masing-masing menyatakan nilai kontribusi aktivitas akibat substitusi gugus-gugus X, Y, atau Z untuk senyawa ke-i, sedangkan harga k_1 , k_2 , k_3 , dan k_4 merupakan konstanta regresi.

Kelemahan metode Free-Wilson yaitu (Sardjoko, 1993):

1. Penggunaan model Free-Wilson akan menghasilkan model persamaan yang hanya dapat memprediksikan turunan baru dalam jumlah terbatas.
2. Tidak dapat digunakan untuk memprediksi gugus lain yang berbeda dari jenis gugus yang digunakan dalam analisis.
3. Pada kebanyakan kasus, jumlah parameter akan jauh lebih besar daripada jumlah senyawa sehingga secara statistik akan tidak signifikan.

II.12 Model Pendekatan HKSA Hansch

Hansch (1963) mengemukakan bahwa, suatu konsep bahwa hubungan struktur kimia dengan aktivitas biologis ($\log 1/C$) suatu turunan senyawa dapat dinyatakan secara kuantitatif melalui parameter-parameter sifat kimia fisika dari substituen yaitu parameter hidrofobik, elektronik dan sterik. Model ini disebut juga model hubungan energi bebas linier (*linear free energy relationship* = LFER) atau pendekatan ekstra termodinamik. Pendekatan hubungan struktur aktivitas melalui parameter sifat kimia fisika oleh Hansch dinyatakan melalui persamaan regresi linear dibawah ini :

$$\log 1/C = a \sum \pi + b \sum \delta + c \sum E_s + d \quad (\text{II.2})$$

Atau persamaan parabolik :

$$\text{Log I/C} = -a \sum \pi^2 + b \sum \pi + c \sum \delta + d \sum E_s + e \quad (\text{II.3})$$

Keterangan :

C = Kadar untuk respons biologis baku

$\sum \pi, \sum \delta, \sum E_s$ = Sumbangan sifat-sifat hidrofobik, elektronik dan sterik dari gugus-gugus terhadap sifat-sifat senyawa induk yang berhubungan dengan aktivitas biologis

a, b, c, d, e = Bilangan (tetapan) yang didapat dari perhitungan analisis regresi linear

II.12.1 Parameter sifat fisikokimia

Parameter sifat kimia fisika yang sering digunakan dalam HKSA model Hansch adalah parameter hidrofobik, elektronik, dan sterik.

1. Parameter Hidrofobik (π)

Parameter hidrofobik (lipofilik) suatu obat dapat dinilai secara eksperimental dapat menguji sebaran distribusi obat dalam oktanol/air. Parameter ini menunjukkan kelarutan obat dalam lipid agar mampu menembus reseptor. Distribusi relatif diketahui yaitu sebagai koefisien partisi (P). Koefisien partisi (P) adalah tetapan kesetimbangan suatu senyawa dalam pelarut non polar/polar.

Senyawa yang bersifat hidrofobik memiliki nilai P tinggi, sedangkan senyawa hidrofilik memiliki nilai P yang rendah. Nilai log P menunjukkan efektivitas distribusi senyawa kandidat obat dalam tubuh manusia. Semakin tinggi nilai Log P sampai batas tertentu maka obat tersebut akan lebih mudah terdistribusi dalam fasa non polar (lipid) daripada fasa polar (air), sehingga semakin mudah untuk menembus membran biologis yang terusun atas lipid. Sifat ini akan memudahkan senyawa obat untuk dapat berikatan dengan reseptor, sehingga makin baik untuk dikonsumsi manusia (Dewi dan Sanjaya, 2018).

Kelarutan berperan penting dalam proses absorpsi obat dalam mencapai sirkulasi darah untuk selanjutnya diedarkan ke seluruh tubuh. Sifat ini dipengaruhi oleh polaritas senyawa obat dalam menembus membran sel yang tersusun atas lipid. Senyawa dengan kepolaran tinggi akan menurunkan daya absorpsi senyawa obat karena sifatnya hidrofilik. Sebaliknya, rendahnya polaritas senyawa akan meningkatkan absorpsi karena sifatnya yang lipofilik. Pada kajian kimia komputasi, sifat ini diwakili oleh log S (Azizah dkk., 2013).

2. Parameter Elektronik (δ)

Parameter elektronik memiliki efek suatu obat dapat melewati membran sel dan seberapa kuat efek tersebut dapat berinteraksi dengan lokasi ikat. Terdapat 3 macam sifat elektronik, yaitu :

- a. Pengaruh berbagai substituen terhadap reaktivitas berbagai molekul yang tidak mengalami perubahan. Penetapannya menggunakan perhitungan orbit molekul. Sifat elektronik yang berkaitan dengan tetapan ionisasi (pK_a) dan berhubungan dengan bentuk terionkan dan tak terionkan dari suatu senyawa pada pH yang tertentu. Penetapannya menggunakan persamaan Handerson-Hasselbach.
- b. Sifat oksidasi-reduksi atau reaktivitas senyawa. Penetapannya menggunakan perhitungan mekanika kuantum energi orbital.

HOMO (*Highest Occupied Molecular Orbitals*) merupakan orbital tertinggi pada pita valensi yang ditempati elektron. Energi HOMO berikatan langsung dengan potensial ionisasi dan karakteristik kerentanan molekul terhadap serangan elektrofil

LUMO (*Lowest Unoccupied Molecular Orbitals*) merupakan orbital terendah pada pita konduksi yang tidak ditempati elektron. Energi LUMO berhubungan langsung dengan afinitas elektron dan ciri kerentanan molekul terhadap serangan nukleofil.

Energi HOMO dan energi LUMO sangat penting dalam reaksi radikal. Selisih antara energi HOMO dan LUMO (GAP) penting dalam penentuan ukuran kestabilan molekul. Apabila selisihnya besar maka molekul tersebut memiliki stabilitas yang tinggi, sehingga reaktivitasnya rendah dalam reaksi kimia (Pamungkas *et al.*, 2013).

Momen dipol didefinisikan sebagai perbedaan elektronegativitas atom-atom yang menyusun suatu senyawa. Makin besar selisih keelektronegatifan antara dua atom, makin besar pula kepolarannya tetapi molekul tersebut tidak memiliki titik pusat simetri, atau distribusi muatannya tidak simetris (Adlim, 2009).

3. Parameter Sterik

Tetapan sterik substituen dapat diukur berdasarkan sifat meruah gugus-gugus dan efek gugus pada kontak obat dengan sisi reseptor yang berdekatan.

a. Refraksi molar

Refraksi molar (M_R) merupakan suatu nilai total polarisabilitas dari molekul obat yang sangat bergantung pada suhu, indeks bias dan tekanan. Polarisabilitas adalah kemudahan suatu molekul untuk membentuk dipol sesaat atau untuk mengimbaskan suatu molekul. Menurut aturan Lipinski, refraksi molar senyawa yang baik antara 40-130.

Tetapan refraksi molar (M_R) dihitung melalui persamaan Lorenz-Lorenz sebagai berikut :

$$M_R = (n^2 - 1) \times BM / (n^2 - 2) \times d \quad (\text{II.4})$$

Keterangan :

n = Indeks refraksi

d = Kerapatan (density)

Sementara Indeks Balaban menggambarkan kapasitas molar, energi Gibbs bias indeks dan entalpi pada rantai struktur senyawa (Zhoua, 2009).

II.12.2 Analisis Statistika dalam HKSA Model Hansch

Perhitungan statistika yang sering digunakan dalam hubungan struktur dan aktivitas melalui parameter-parameter sifat fisika kimia adalah analisis regresi linear dan non linear. Untuk mengetahui hubungan kuantitatif antara struktur kimia dan aktivitas biologis melalui parameter sifat kimia fisika dapat dilakukan perhitungan statistika dengan bantuan komputer, menggunakan program seperti SPSS dan *statistica*.

Perhitungan analisis statistik yang paling sering digunakan dalam hubungan struktur dan aktifitas melalui parameter kimia fisika adalah regresi linier. Untuk mengetahui hubungan kualitatif antara lain struktur kimia dan aktivitas biologis melalui parameter kimia

1. Regresi linear

Perhitungan regresi linear digunakan untuk mencari hubungan antara aktivitas biologis dengan satu parameter sifat kimia fisika atau lebih. Regresi linear untuk satu parameter sifat kimia fisika dapat dinyatakan melalui persamaan sebagai berikut :

$$Y = aX + b \quad (\text{II.5})$$

Keterangan :

Y = aktivitas biologi

X = parameter kimia fisika

a,b = koefisien regresi

- c. Regresi linear untuk dua parameter sifat kimia fisika atau lebih dapat dinyatakan melalui persamaan sebagai berikut:

$$Y = aX_1 + bX_2 + c \quad (\text{II.6})$$

$$Y = aX_1 + bX_2 + cX_3 + d \quad (\text{II.7})$$

Keterangan :

X_1, X_2, X_3 = parameter sifat kimia fisika 1,2,3

2. Regresi non linear

Regresi non linear untuk satu parameter sifat kimia fisika dinyatakan melalui persamaan-persamaan sebagai berikut:

$$Y = a(X)^2 + b \quad (\text{II.8})$$

$$Y = a(X)^2 + bX + c \quad (\text{II.9})$$

Regresi linear untuk dua parameter sifat kimia fisika atau lebih dapat dinyatakan melalui persamaan berikut :

$$Y = -a(X)^2 + bX_1 + cX_2 + d \quad (\text{II.10})$$

$$Y = -a(X)^2 + bX_1 + cX_2 + dX_3 + e \quad (\text{II.11})$$

3. Kriteria statistika

Siswandono dan Soekarjo, 2000 menyatakan bahwa keabsahan persamaan yang diperoleh dan arti perbedaan parameter yang digunakan dalam hubungan kuantitatif struktur aktivitas model Hansch, dapat dilihat dengan beberapa kriteria statistika seperti R, R^2 , F, t dan s. Nilai R (koefisien korelasi) menunjukkan tingkat hubungan antara data aktivitas biologi dari pengamatan percobaan dengan data hasil perhitungan berdasarkan persamaan regresi. Koefisien korelasi adalah angka yang bervariasi mulai dari 0 sampai 1. Semakin tinggi nilainya maka semakin baik hubungannya. Untuk

mendapatkan nilai koefisien korelasi yang dapat diterima tergantung jumlah data penelitian. Semakin banyak jumlah data penelitian semakin rendah koefisien korelasi atau nilai R yang dapat diterima. Dalam penelitian hubungan kuantitatif struktur aktivitas dicapai suatu nilai r lebih besar 0,8. Nilai R^2 menunjukkan berapa persen aktivitas biologi yang dapat dijelaskan hubungannya dengan sifat kimia fisika yang digunakan. Contoh: suatu hubungan yang mempunyai koefisien korelasi $(R) = 0,990$ berarti dapat dijelaskan $(0,990)^2 \times 100\% = 98\%$ dari variasi data. Nilai F menunjukkan kemaknaan hubungan bila dibandingkan dengan tabel F. makin besar nilai F maka semakin besar derajat kemaknaan hubungan. Nilai F adalah indikator bilangan untuk menunjukkan hubungan yang dinyatakan oleh persamaan yang didapat adalah benar. Nilai t menunjukkan perbedaan koefisien regresi a, b, c, dan d dari persamaan regresi bila dibandingkan dengan tabel t. Nilai s (simpangan baku) menunjukkan nilai variasi kesalahan dalam percobaan. Nilai q^2 sebagai hasil validasi silang yang menunjukkan kinerja dan stabilitas model yang diperoleh, dihitung menurut persamaan:

$$q^2 = 1 - \frac{\sum (y_i - y'_i)^2}{\sum (y_i - \bar{y})^2} \quad (\text{II.12})$$

y_i = aktivitas eksperimen senyawa ke-i

$\bar{y}$ = aktivitas eksperimen rata-rata

y'_i = aktivitas prediksi validasi silang senyawa ke-i

Validasi adalah suatu tindakan yang membuktikan bahwa suatu proses/metode dapat memberikan hasil yang konsisten sesuai

dengan spesifikasi yang telah ditetapkan. HKSA yang valid seharusnya ada:

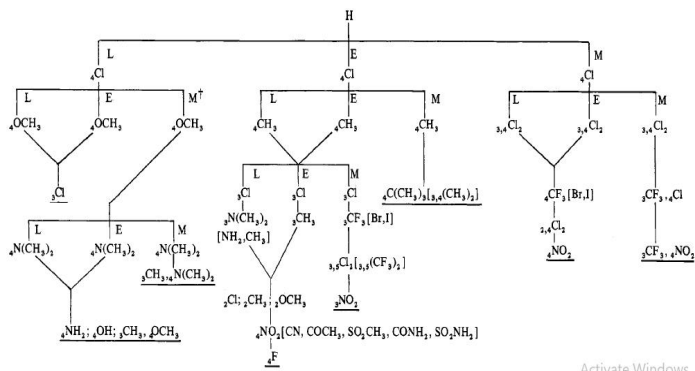
1. Titik akhir yang didefinisikan;
2. Algoritma yang tidak ambigu;
3. Domain penerapan yang terdefinisi
4. Ukuran yang tepat dari kebaikan, kekuatan, dan prediktifitas
5. Interpretasi mekanistik

Perhitungan analisis statistik yang paling sering digunakan dalam hubungan struktur dan aktifitas melalui parameter fisikokimia adalah regresi linier. Untuk mengetahui hubungan kualitatif dimana antara lain struktur kimia dan aktivitas biologis yang melalui parameter kimia (Dearden, 2017).

II.12.3 Modifikasi struktur model pendekatan Topliss

Topliss (1972) telah mengembangkan petunjuk yang nonmatematik, nonstatistik dan nonkomputer dengan menggunakan prinsip dasar pendekatan hubungan struktur dan aktivitas model Hansch untuk memodifikasi molekul suatu struktur senyawa penuntun yang sudah diketahui aktivitasnya, dalam usaha mengoptimalkan aktivitas obat dengan lebih efisien. Modifikasi struktur model pendekatan Topliss adalah memasukkan gugus-gugus yang mempunyai sifat lipofilik, elektronik dan sterik tertentu, pada posisi yang tertentu struktur senyawa penuntun, dengan ramalan akan menghasilkan senyawa yang memberikan aktivitas lebih tinggi, sama atau lebih rendah dibanding dengan aktivitas senyawa penuntun dan kemudian dicari jalur sintesis yang paling menguntungkan. Modifikasi struktur model pendekatan Topliss dikelompokkan menjadi dua, yaitu

modifikasi struktur pada cincin aromatik dan pada rantai samping gugus alkil. Modifikasi struktur pada cincin aromatik yaitu dasar modifikasi ini adalah bahwa struktur penuntun yang telah ditemukan pada umumnya mengandung cincin benzena dan dalam kenyataannya sekitar 40% molekul organik dan 50% dari semua paten termasuk kategori ini. Pada modifikasi struktur cincin aromatik yang diperhatikan adalah sifat lipofilik, (+) π atau (-) π dan elektronik, (+) σ atau (-) σ , dari substituen-substituen yang dimasukkan dalam struktur penuntun dan pengaruhnya terhadap aktivitas biologis. Keterangan L: lebih aktif, S: Sama aktif dan K: kurang aktif. Tanda []: menunjukkan gugus alternatif



Gambar II.3. Skema Operasional Substitusi aromatik model pendekatan Topliss (Topliss, 1972).

Turunan pertama yang disintesis dalam seri baru adalah senyawa yang disubstitusi dengan 4-Cl, kemudian diuji aktivitas biologinya, apakah lebih tinggi, sama atau lebih rendah dibanding dengan aktivitas molekul penuntun. Atom Cl mempunyai nilai π dan σ positif, interpretasi yang sederhana adalah peningkatan aktivitas disebabkan oleh peningkatan sifat lipofilik dan elektronik, sehingga

substitusi selanjutnya masih meningkatkan kedua sifat tersebut, yaitu dengan mensintesis 3,4 dikloro.

Bila turunan tersebut mempunyai aktivitas yang lebih tinggi, peningkatan lebih lanjut nilai π dan σ dapat dicapai dengan mensintesis turunan 4-Cl, 3-CF₃ dan 4-NO₂, 3-CF₃. Senyawa terakhir ini kemungkinan mempunyai aktivitas yang optimum. Meskipun demikian harus ditekankan bahwa analisis sederhana ini hanya berdasarkan pada sifat lipofilik dan elektronik saja sedang faktor yang lain seperti sterik, yang kemungkinan dapat mempengaruhi aktivitas, diabaikan sehingga kemungkinan dapat menyebabkan kesalahan analisis.

Tabel II.1 Nilai Tetapan Substituen yang digunakan pada substituen aromatik menurut model pendekatan Topliss (Topliss, 1972).

Substituen	Nilai π	Nilai σ
H	0,00	0,00
4-Cl	0,70	0,23
3,4-Cl ₂	1,25	0,52
4-Cl, 3-CF ₃	1,59	0,66
4-NO ₂ , 3-CF ₃	0,60	1,21
4-CF ₃	0,88	0,54
4-Br	0,86	0,23
4-I	1,12	0,18
2,4-Cl ₂	1,42	0,46
4-NO ₂	-0,28	0,78
4-CH ₃	0,56	-0,17
3-Cl	0,76	0,37
3-N(CH ₃) ₂	0,18	-0,15
3-CH ₃	0,51	-0,07
2-Cl	0,71	0,23
2-CH ₃	0,56	-0,17
2-OCH ₃	-0,02	-0,27
4-F	0,14	0,06
4-C(CH ₃) ₃	1,98	-0,20
3-CF ₃	0,88	0,43
3,5-Cl ₂	1,25	0,75
4-OCH ₃	-0,04	-0,27
4-N(CH ₃) ₂	0,18	-0,83
4-NH ₂	-1,23	-0,66
4-OH	-0,61	-0,37
4-OCH(CH ₃) ₂	0,76	-0,45
3-CH ₃ ,4-N(CH ₃) ₂	0,69	-0,90

II.13 *Molecular docking*

Docking merupakan suatu metode yang digunakan untuk memprediksi orientasi suatu molekul terhadap molekul lain saat berinteraksi untuk membentuk kompleks yang stabil. Studi ini dapat digunakan untuk mempelajari interaksi anatara protein dengan ligand, protein-protein, protein-peptida dan protein-nukleotida. Tujuan dilakukannya *docking* adalah untuk memprediksi orientasi ikatan dari suatu molekul kecil (ligan) kandidat obat terhadap protein reseptor target, sehingga dapat diperkirakan afinitas dan aktivitas ligan terkait (Mukesh *et al.*, 2011).

Docking termasuk metode dalam rancangan obat berbasis struktur (*structure based drug design/SBDD*) yang digunakan ketika informasi struktur dari target obat telah diketahui dan dapat dimanfaatkan untuk mengembangkan inhibitorynya. Metode ini sering digunakan untuk dapat memprediksi afinitas kandidat obat terhadap protein reseptor dengan tingkat akurasi yang tinggi serta konformasi ligan dalam mengikuti protein reseptor tepat (Ferreira dkk., 2015).

Molecular *Docking* dapat digunakan dengan program-program seperti *Autodock*. *Autodock* menggunakan model kinematika ligan yang memulai proses pencarian secara acak diluar sisi aktif dan dengan menyelidiki nilai translasi, rotasi dan derajat bebas internal, hingga secepatnya mencapai konformasi tertentu (Huey, 2007).

Tahapan docking terdiri dari :

- a. *Sampling*, yaitu pencarian posisi pada sisi aktif protein dan konformasi. Pada tahap ini, langkah pertama digunakan untuk membentuk konformasi ligan-protein yang mungkin terjadi pada tempat ikatan protein.

- b. *Scoring*, yaitu memprediksi skor afinitas ikatan. Pada langkah ini, penilaian energi ikatan ligan dalam model konformasi digunakan untuk menentukan afinitas ikatan antara ligan dan protein. Skor penilaian yang diberikan pada masing-masing
- c. konformasi akan diurutkan dan senyawa aktif dengan skor tertinggi ditetapkan sebagai konformasi ligan protein yang paling sesuai (Mukesh, 2011).

Energi Bebas dapat di tunjukan sebagai probabilitas pengukuran yang menjelaskan energy rata-rata dari molekul dalam jumlah banyak. Dalam ilmu kimia, biasa disebut sebagai energy bebas gibbs dan energy bebas Helmholtz. Energy bebas gibbs menggambarkan reaksi pada temperature dan tekanan konstan sedangkan energy bebas Helmholtz menggambarkan reaksi yang berlangsung pada kondisi tekanan dan volume konstan. Rreaksi kimia dapat berjalan spontan dengan adanya penurunan fungsi gibbs. Definisi paling umum dari energy bebas adalah :

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (\text{II.13})$$

Dimana H adalah entalpi, T adalah temperature dan S adalah entropi dari system (Atkins, 2006).

Nilai yang diperoleh pada proses *docking* adalah energi bebas ikatan yang menunjukkan afinitas pengikatan, yaitu ukuran kemampuan obat untuk berikatan dengan reseptor. Semakin kecil (negatif) nilainya, maka afinitas ligan terhadap reseptor akan semakin tinggi. Begitu pula sebaliknya, semakin besar (positif) nilai energi bebas ikatan maka semakin rendah afinitas ligan terhadap reseptor (Ruswanto dkk., 2015).

II.13.1 Ligan dan reseptor

Sintesis serangkaian indazoles trisiklik sebagai kelas novel antagonis perusak reseptor estrogen selektif. Reseptor estrogen α degrader yang diinginkan profil antagonis dan menunjukkan aktivitas dalam model kanker. Struktur sinar-X (PDB ID 6IAR) dari indazole diperumit dengan konstruk domain pengikat ligan ER α menunjukkan bahwa nitrogen dari indazole trisiklik berinteraksi dengan air yang dilestarikan dan langsung dengan Glu-353 dengan jarak 3,3 dan 2,8 Å (Scoot *et al*, 2019).

II.14 Prediksi toksisitas

Selama manusia hidup, tanpa disadari manusia terkena atau terpapar berbagai senyawa kimia, banyak senyawa kimia yang berpotensi berbahaya. Menentukan toksisitas bahan kimia merupakan hal yang sangat penting untuk meminimalisir paparan senyawa kimia berbahaya setiap hari. Prediksi toksisitas merupakan salah satu isu utama dalam pengembangan obat baru, dengan lebih dari 30% calon obat baru gagal pada saat uji klinis, karena terdapat efek toksik yang tidak terdeteksi (Djalil dkk., 2012).

Dalam membantu keterbatasan tersebut telah dikembangkan metode penentuan sifat toksikologi menggunakan *software*. Penentuan sifat toksikologi ini menggunakan metode yang disebut *Quantitative Structure Activity Relationship* atau disebut dengan QSAR. Penggunaan *software* ini dapat membantu penentuan sifat toksikologi secara lebih cepat dan murah walaupun tidak menjamin kelengkapan dari seluruh data toksikologi yang dibutuhkan.