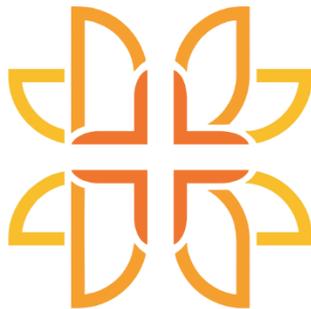


**Hubungan Kuantitatif Struktur Aktivitas (HKSA) Turunan Senyawa Khrisin
Sebagai Antikanker Karsinoma Lambung**

Laporan Tugas Akhir

**Mita Sri Puspita
191FF04046**



**Universitas Bhakti Kencana
Fakultas Farmasi
Program Strata I Farmasi
Bandung
2021**

LEMBAR PENGESAHAN

Hubungan Kuantitatif Struktur Aktivitas (HKSA) Turunan Senyawa Khrisin Sebagai Antikanker Karsinoma Lambung

Laporan Tugas Akhir

Diajukan untuk memenuhi persyaratan kelulusan Sarjana Farmasi

Mita Sri Puspita
191FF04046

Bandung, 16 Agustus 2021

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Serta,



(apt. Deden Indra Dinata, M.Si.)
NIDN. 0417097602



(Dr. apt. Fauzan Zehi Muttaqin, M.Si.)
NIDN. 0424117601

ABSTRAK**Hubungan Kuantitatif Struktur Aktivitas (HKSA) Turunan Senyawa Khrisin
Sebagai Antikanker Karsinoma Lambung**

Oleh :
Mita Sri Puspita
191FF04046

Khrisin merupakan senyawa turunan flavonoid yang memiliki aktivitas antikanker karsinoma lambung. Kanker lambung yakni kanker yang terletak di bagian saluran pencernaan antara esofagus dan usus kecil. Sel-selnya rentan terhadap peradangan sehingga menyebabkan gastritis dan tukak lambung kemudian mejadi kanker lambung. Studi hubungan kuantitatif struktur aktivitas (HKSA) telah dilakukan terhadap 21 senyawa khrisin dan turunannya sebagai antikanker karsinoma lambung menggunakan *Multiple Linier Regression* (MLR). Penggambaran struktur senyawa khrisin dan turunannya menggunakan *ChemBio 2D* dan *3D*. Optimasi geometri dengan metode semi-empirik *Austin Model 1* (AM1) dan perhitungan parameter deskriptor menggunakan *Gaussian View* dan *Gaussian 5.0*. Penentuan model persamaan terbaik didasarkan pada kriteria statistika dari analisis regresi multivariat dan validasi silang *leave-one-out* dengan menggunakan program *SPSS 21 for Windows*. Hasil penelitian menunjukkan model persamaan HKSA terbaik $\text{Log IC}_{50} = 9,655 + (0,603 * \text{qC}_2) + (10,842 * \text{qC}_3) - (30,462 * \text{E}_{\text{homo}}) + (0,204 * \text{MD}) - (0,844 * \text{LogP}) - (1,233 * \text{LogS}) - (0,010 * \text{M}_R) - (0,022 * \text{M}_R)$. Persamaan signifikan pada tingkat kepercayaan 95% dengan parameter statistik : $n = 21$; $m = 8$; $R = 0,922$; $R^2 = 0,850$; *adjusted R square* = 0,750; $\text{SE} = 0,116$; $\text{sig.} = 0,001$; $F = 1,404$; dan *PRESS* = 0,00774.

Kata kunci : antikanker, HKSA, khrisin, kanker lambung, *leave-one-out*.

ABSTRACT**Quantitative Structure Activity Relationship (QSAR) of Chrisin Derivatives as Anticancer Gastric Carcinoma**

By :
Mita Sri Puspita
191FF04046

Chrisin is a flavonoid derived compound that has anticancer activity for gastric carcinoma. Stomach cancer is cancer located in the digestive tract between the esophagus and small intestine. The cells are susceptible to inflammation, causing gastritis and gastric ulcers which then become gastric cancer. Quantitative Structure Activity Relationship (QSAR) study to 21 chrisin compounds-derivatives as anticancer gastric carcinoma using multiple linear regression (MLR) has been done. The depiction of the structure of chrisin compounds and their derivatives using ChemBio 2D and 3D. Geometry optimization using Austin Model 1 (AM1) semi-empirical method and calculation of descriptor parameters using Gaussian View and Gaussian 5.0. Determination of the best equation model was based on statistical criteria from multivariate regression analysis and leave-one-out cross validation using the SPSS 21 for Windows program. The results showed that the best QSAR equation model, $\text{Log IC}_{50} = 9,655 + (0,603 * qC_2) + (10,842 * qC_3) - (30,462 * E_{\text{homo}}) + (0,204 * MD) - (0,844 * \text{LogP}) - (1,233 * \text{LogS}) - (0,010 * M_R) - (0,022 * M_R)$. The equation was significant at the 95% confidence level with statistical parameters: $n = 21$; $m = 8$; $R = 0,922$; $R^2 = 0,850$; adjusted R square = 0,750; SE = 0,116; sig. = 0,001; F = 1,404; and PRESS = 0,00774.

Keywords: anticancer, QSAR, chrisin, gastric cancer, leave one-out

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang mana atas rahmat dan hidayah-Nya penulis mampu menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul “Analisis Kuantitatif Hubungan Struktur Aktivitas (HKSA) Turunan Senyawa Khrisin Sebagai Antikanker Karsinoma Lambung”.

Penulis menyadari bahwa selama penulisan Skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Hal ini tidak luput dari kekurangan maupun keterbatasan penulis dalam kemampuan, pengalaman, juga literatur yang penulis miliki. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan saran dan kritik yang sifatnya membangun guna perbaikan di masa yang akan datang.

Dengan terselesaikannya Laporan Tugas Akhir Sarjana Farmasi ini, penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak apt. Deden Indra Dinata, M.Si. selaku pembimbing utama, yang berkenan memberikan ilmunya serta masukan kepada penulis selama proses mengerjakan tugas akhir ini
2. Bapak Dr. apt. Fauzan Zein Muttaqin, M.Si. selaku pembimbing serta, yang berkenan memberikan ilmunya serta masukan kepada penulis selama proses mengerjakan tugas akhir ini
3. Orang tua dan keluarga yang senantiasa mendoakan, mendukung, memberi nasihat dan dorongan, serta
4. Teman-teman Matrikulasi angkatan 2019 Program S1 Farmasi Universitas Bhakti Kencana Bandung dan semua pihak yang tidak dapat peneliti sebutkan satu persatu yang telah memberikan *support* kepada penulis.

Semoga Allah SWT membalas semua amal kebaikan yang telah diberikan kepada penulis.

Penulis berharap semoga Laporan Tugas Akhir Sarjana Farmasi ini bermanfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca umumnya. Aamiin.

Bandung, Juni 2021

Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK.....	i
<i>ABSTRACT</i>	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR TABEL.....	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN.....	vii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
I.1. Latar Belakang.....	1
I.2. Rumusan Masalah.....	2
I.3. Tujuan Penelitian.....	2
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	4
II.1. Kanker.....	4
II.2. <i>Flavonoid</i>	8
II.3. Khrisin	10
II.4. Analisis HKSA	11
BAB III. METODE PENELITIAN	20
III.1. Lokasi dan Waktu Penelitian	20
III.2. Subyek Penelitian	20
III.3. Metode Pengumpulan Data.....	20
III.4. Analisis Data.....	20
III.5. Desain senyawa baru	21
III.6. Prediksi Toksisitas	21
BAB IV. PROSEDUR PENELITIAN	22
IV.1. Alat dan Bahan Penelitian	22
IV.2. Prosedur Kerja	24
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN	26
V.1. Hasil Penelitian.....	26
V.2. Pembahasan	26
BAB. VI PENUTUP	46
VI.1. Kesimpulan.....	46
VI.2. Saran	46
DAFTAR PUSTAKA	47

DAFTAR TABEL

Tabel II.1. Koefisien Korelasi.....	16
Tabel IV.1. Data aktivitas (log IC ₅₀) senyawa khrisin dan turunannya.....	22
Tabel V.1. Deskriptor-Deskriptor yang Dihitung dengan Metode Semiempiris AM1.....	30
Tabel V.2. Model Persamaan Terpilih Hasil Analisis Regresi <i>Multilinear</i>	32
Tabel V.3. Data Statistika Regresi <i>Linear</i> Multivariat dan Hasil <i>LOO</i>	36
Tabel V.4. Nilai Koefisien Dan Nilai Mutlak Koefisien Masing-Masing Parameter Pada Persamaan 6	37
Tabel V.5. Data Struktur Baru Senyawa Turunan Khrisin Dan Aktivitas Biologisnya	41
Tabel V.6. Hasil prediksi Tes Ames, Karsinogenik dan Toksisitas terhadap Jantung	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur dasar senyawa (a) <i>flavonoid</i> , (b) <i>isoflavonoid</i> , (c) <i>neoflavonoid</i>	8
Gambar 2.2 Struktur (a) <i>flavon</i> dan (b) <i>flavonol</i>	9
Gambar 2.3. Struktur (a) <i>flavanon</i> dan (b) <i>flavanonol</i>	9
Gambar 2.4. (a) Struktur khrisin 3D dan (b) Struktur khrisin 2D.....	10
Gambar 4.1. Struktur senyawa derivat <i>flavonoid</i> , khrisin dan turunannya.....	23
Gambar 5.1. Struktur senyawa turunan baru dengan nilai IC ₅₀ sebesar 1,233 (μM).....	26
Gambar 5.2. Kerangka struktur senyawa khrisin dan turunannya. Penomoran atom tidak mengikuti kaidah tatanama senyawa dan hanya digunakan untuk permodelan pada penelitian ini	27
Gambar 5.3. Senyawa Khrisin yang belum di optimasi geometri	28
Gambar 5.4. Senyawa Khrisin yang sudah di optimasi geometri	29
Gambar 5.5. Log IC ₅₀ eksperimen (x) versus Log IC ₅₀ prediksi (y) sebelum pembuangan data <i>outlier</i>	35
Gambar 5.6. Log IC ₅₀ eksperimen (x) versus Log IC ₅₀ prediksi (y) setelah pembuangan data <i>outlier</i>	35

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data set 21 senyawa khrisin dan turunannya	50
Lampiran 2. Nilai <i>PRESS</i> model persamaan 6.....	51
Lampiran 3. Trainingset persamaan validasi (setelah pembuangan senyawa <i>outlier</i>).....	52
Lampiran 4. Nilai <i>PRESS</i> persamaan validasi	53
Lampiran 5. Nilai q2 dari validasi silang LOO.....	54
Lampiran 6. Data optimasi data set senyawa baru.....	56
Lampiran 7. Format Surat Pernyataan Bebas Plagiasi.....	58
Lampiran 8. Format Surat Persetujuan untuk dipublikasikan di media <i>online</i>	59

BAB I. PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang

Kanker merupakan penyakit kronis yang peningkatannya cukup tinggi dari tahun ke tahun. Menurut *World Health Organization* atau WHO (2017) kanker merupakan penyakit berupa munculnya sel-sel abnormal dalam tubuh yang berlebihan, dan sel-sel tersebut dapat menyerang bagian tubuh lainnya. Di dunia, kanker merupakan penyakit mematikan utama, sekitar 30% kematian disebabkan oleh penyakit kanker. Prevalensi penyakit kanker di Indonesia sekitar 1,4% atau diperkirakan 347,792 orang pada tahun 2013, dan meningkat pada tahun 2018 sekitar 9,6 juta kematian (Limpens, 2018).

Alam selalu menjadi sumber inspirasi yang baik karena melimpahnya komponen bioaktif yang ditemukan dalam tumbuhan. *Flavonoid* merupakan senyawa polifenol alami yang ditemukan dalam tumbuhan, dengan aktivitas farmakologis dari *flavonoid* berupa antioksidan, antimikroba, antiinflamasi, antikanker, dan antivirus. Lebih dari 4.000 turunan *flavonoid* aktif secara biologis yang diidentifikasi hingga saat ini (Jana, 2018).

Khrisin merupakan salah satu senyawa turunan *flavonoid* yang dikenal dengan nama 5,7-dihidroksi flavon yang telah terbukti aktivitas farmakologisnya. Khrisin telah terbukti memberikan aktivitas antikanker dengan menghambat sel kanker dengan menurunkan antigen inti sel poliferasi (PCNA) dalam karsinoma serviks epiteloid manusia (HeLa) serta menginduksi apoptosis pada garis sel makrofag manusia (U937) melalui aktivasi caspase dan inaktivasi Akt. Khrisin terbukti memberikan aktivitas penghambatan pada tirosinase, *histone* deactylase, dan aromatase. Selanjutnya khrisin dilakukan pengembangan lebih lanjut sebagai agen antikanker seperti sintesis serangkaian turunan khrisin dengan aktivitas antikanker yang kuat terhadap karsinoma lambung manusia

(SGC-7901) dan karsinoma usus besar manusia (HT-29) karakteristik aktivitas antikanker yang didapat ideal (Worachartcheewan and Nantasenamat, 2014).

Penentuan senyawa flavonoid dengan aktivitas antikanker terbaik merupakan suatu penelitian yang cukup memakan waktu dan biaya. Salah satu pemanfaatan metode Analisis Kuantitatif Hubungan Struktur Aktivitas (HKSA) merupakan pendekatan komputasi untuk membedakan hubungan antara serangkaian molekul senyawa yang diteliti aktivitas biologis, sifat fisika kimia yang dideskripsikan deskriptor dengan aktivitas tersebut. Hubungan ini diperoleh dengan menggunakan perangkat lunak statistik untuk mendapatkan kombinasi yang *linear* dengan deskriptor, sehingga dapat digunakan untuk memprediksi aktivitasnya (Nisai *et al.*, 2015).

Maka penelitian ini bertujuan untuk memperoleh hubungan kuantitatif antara struktur turunan senyawa khrisin dan turunannya sebagai aktivitas antikanker karsinoma lambung dengan IC_{50} 21 turunan senyawa diperoleh dari penelitian Worachartcheewa dkk (2014). Penelitian ini menggunakan metode semiempiris AM1 (*Austin Model 1*) yang diharapkan akan memberikan model persamaan terbaik terhadap hubungan struktur senyawa turunan khrisin sebagai antikanker karsinoma lambung.

I.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dibuat perumusan masalah :

Bagaimana hubungan kuantitatif struktur aktivitas senyawa turunan khrisin sebagai antikanker karsinoma lambung berdasarkan persamaan terbaik yang diperoleh dari hasil analisis HKSA?

I.3. Tujuan Penelitian

1. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan hubungan kuantitatif antara struktur turunan khrisin dengan aktivitasnya sebagai antikanker karsinoma lambung berdasarkan parameter semiempiris AM1.

2. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan senyawa turunan khrisin yang mempunyai aktivitas antikanker karsinoma lambung yang lebih baik berdasarkan persamaan terbaik hasil analisis HKSA.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Kanker

II.1.1. Definisi

Kanker adalah penyakit yang ditandai dengan pertumbuhan tidak terkendali sel-sel abnormal yang tumbuh dengan cepat dan melampaui jumlah dari biasanya, yang kemudian dapat menyerang bagian tubuh yang berdekatan dan menyebar ke orang lain (WHO, 2017).

Kanker lambung merupakan kanker yang terletak disaluran pencernaan antara esofagus dan usus kecil. Dalam perut terdapat selaput lendir yang terdiri dari sel epitel kolumnar dan kelenjar. Sel-sel ini rentan terhadap peradangan, yang dikenal sebagai gastritis, yang dapat menyebabkan tukak lambung, dan akhirnya menjadi kanker lambung (Rawla and Barsouk, 2019).

II.1.2. Etiologi

Kanker dapat disebabkan oleh faktor eksternal (rokok, organisme menular, bahan kimia dan radiasi) dan faktor internal (mutasi gen, hormon, kondisi kekebalan tubuh dan mutasi-mutasi yang terjadi dari metabolisme). Faktor penyebab mungkin bisa bertindak secara bersamaan atau secara berurutan untuk meningkatkan pertumbuhan kanker. Biasanya kanker dapat terdeteksi sepuluh tahun kemudian setelah terpapar faktor eksternal (Kemenkes RI, 2019).

Kanker lambung disebabkan oleh faktor eksternal dari pola makan yang tidak sehat seperti konsumsi makanan yang diasinkan, diasapi dan jarang mengkonsumsi buah-buahan serta sayuran. Sedangkan faktor penyebab internal yakni riwayat medis keluarga dimana terdapat kanker lambung, infeksi yang disebabkan oleh *Helicobacter pylori*, radang lambung kronis, *pernicious anemia*, dan merokok. Kanker lambung 95% adalah

adenokarsinoma dan diikuti oleh limfoma lambung primer. Adenokarsinoma terbagi menjadi kanker kardial dan non-kardial berdasarkan lokasi anatominya. Kanker non-kardial disebabkan oleh gastritis kronis, peradangan pada lapisan lambung yang dapat disebabkan oleh berbagai faktor lingkungan. Patogenesis kanker kardial masih belum jelas, etiologinya penyakit refluks gastroesofageal (GERD) dan menyerupai adenokarsinoma esofagus, dan yang lainnya berhubungan dengan *H. pylori gastritis atrofi* dan menyerupai kanker non-kardial. Kanker ini selanjutnya secara histologis dibagi menjadi kategori usus (berdiferensiasi baik) atau difus (berdiferensiasi). Jenis usus adalah yang lebih umum, dengan insiden tertinggi di antara pria yang lebih tua, tetapi juga membawa prognosis yang lebih baik, sedangkan tipe difus mempengaruhi orang yang lebih muda dan seringkali wanita (Rawla and Barsouk, 2019).

II.1.3. Faktor Resiko

Menurut *National Cancer Institute* (2021) faktor risiko kanker lambung meliputi:

1. Memiliki salah satu kondisi medis berikut :
 - i. Infeksi perut oleh *Helicobacter pylori* (*H. pylori*)
 - ii. Anemia pernisiiosa
 - iii. *Metaplasia* usus (suatu kondisi dimana lapisan perut normal diganti dengan sel-sel yang melapisi usus)
 - iv. Polip lambung
 - v. Virus Epstein-Bar
 - vi. Sindrom *familial* (termasuk poliposis adenomatosa *familial*)
2. Makanan tinggi asin, makanan asap dan rendah buah sayur
3. Makanan yang belum matang atau disimpan dengan benar
4. Merokok

5. Genetik atau turunan

II.1.4. Tanda dan Gejala

Kanker lambung dini tidak memiliki gejala khusus. Kebanyakan kanker lambung terjadi dari penyakit lanjutan seperti radang lambung kronis, tanda fisik kanker lambung terjadi secara lambat. Tanda dan gejala kanker lambung menurut *American Cancer Society*, (2017) :

1. Gangguan pencernaan
2. Mual atau muntah
3. Disfagia
4. Kepenuhan *postprandial*
5. Kehilangan selera makan
6. *Melena* atau pucat akibat anemia
7. *Hematemesis*
8. Penurunan berat badan
9. Perut yang membesar teraba dengan alat *succussion*
10. Kelenjar getah bening yang membesar seperti kelenjar virchow (supraklavikula kiri) dan kelenjar Irlandia (ketiak anterior)

Komplikasi lanjut kanker lambung yang mungkin terjadi :

1. Efusi *peritoneal* dan pleura patologis
2. Obstruksi saluran lambung, sambungan gastroesofagus, atau usus halus
3. Pendarahan di perut akibat varises esofagus atau anastomosis setelah operasi ikterus intrahepatik yang disebabkan oleh hepatomegali
4. Penyakit kuning ekstrahepatik
5. Inanisi dari kelaparan atau cachexia yang berasal dari tumor

II.1.5. Pencegahan dan Terapi Pengobatan

Pencegahan yang dilakukan dengan pengujian laboratorium dan pengobatan. Terlepas dari kontroversi, pemberantasan *H. pylori* di negara berkembang tetap menjadi tujuan utama dalam melawan kanker lambung karena hubungannya yang kuat dengan kanker lambung non-kardia. *Helicobacter pylori* dapat dideteksi secara serologis, misalnya dengan ELISA atau HelicoTest atau melalui tes nafas *urea benchmark* (UBT). Endoskopi diikuti dengan kultur lempeng adalah pilihan yang lebih invasif untuk pengujian infeksi *H. pylori*. Sedangkan pengobatan biasanya dibutuhkan bagi pasien dengan infeksi kronis, sedangkan untuk pengobatan kanker lambung tanpa gejala masih kontroversi (Jenks, 2017).

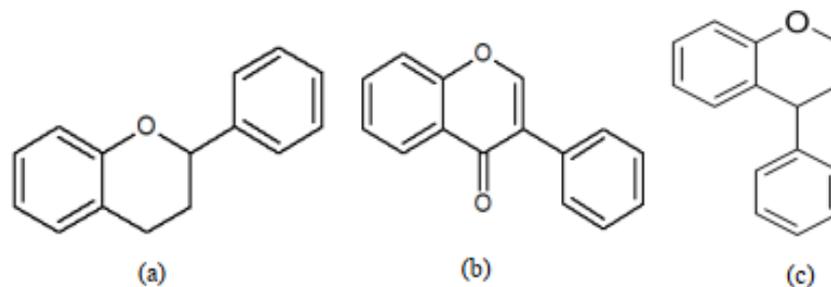
Obat Antiinflamasi *Nonsteroid* (NSAID) seperti aspirin, *ibuprofen* telah terbukti menurunkan resiko kanker perut serta kanker usus besar. Dalam studi kohort retrospektif nasional di Taiwan pada 52.161 pasien, penggunaan NSAID secara teratur ditemukan sebagai faktor pelindung independen untuk perkembangan kanker lambung (rasio bahaya (HR) 0,79 untuk setiap tahun inkremental; $p < 0,001$), terutama di *H. pylori* pasien terkait (HR = 0,52 untuk setiap tahun inkremental; $p < 0,001$) (Wu *et al.*, 2010).

Dalam meta-analisis lain dari 24 studi oleh Huang *et al.*, (2017) ditemukan bahwa penggunaan NSAID berbanding terbalik dengan risiko GC (rasio risiko = 0,78, 96% CI: 0,72-0,85), terutama untuk risiko GC *non-cardia*. Namun, NSAID juga meningkatkan risiko perdarahan internal. Belum ada studi yang menentukan apakah manfaatnya lebih besar dari pada biaya untuk masyarakat umum. Oleh karena itu, NSAID tidak direkomendasikan untuk pencegahan kanker perut, meskipun mereka yang mengkonsumsinya untuk nyeri kronis atau sebagai pengencer darah dapat mengambil manfaat dari penurunan risiko neoplasma.

II.2. Flavonoid

II.2.1. Klasifikasi *Flavonoid*

Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol terbesar yang ditemukan di alam, terutama dalam buah dan sayur. *Flavonoid* merupakan turunan fenol yang memiliki struktur dasar fenilbenzopiron (tokoperol), dicirikan oleh kerangka 15 karbon (C6-C3-C6) yang terdiri dari satu cincin teroksigenasi dan dua cincin aromatis. Berdasarkan kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana dua cincin benzen (C6) terikat pada suatu rantai propan (C3) sehingga membentuk suatu susunan C6-C3-C6. Susunan ini dapat menghasilkan tiga jenis struktur, yakni *1,3-diarilpropan* atau *flavonoid*, *1,2-diarilpropan* atau *isoflavonoid*, dan *1,1-diarilpropan* atau *neoflavonoid*. Struktur dasar senyawa *flavonoid*, *isoflavonoid*, dan *neoflavonoid* ditunjukkan pada Gambar 2.1 (Jana, 2018).



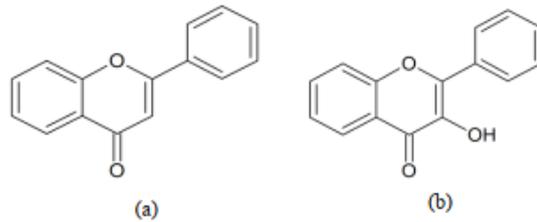
Gambar 2.1 Struktur dasar senyawa (a) *flavonoid*, (b) *isoflavonoid*, (c) *neoflavonoid*

Klasifikasi flavonoid diantaranya menjadi *flavon*, *flavonol*, *flavonon*, *isoflavon*, *antosianin*, dan *kalkon*. Kebanyakan *flavonoid* berbentuk monomer, tetapi ada pula yang berbentuk dimer (biflavonoid), trimer, tetramer, dan polimer. *Flavonoid* mempunyai sejumlah gugus hidroksil atau suatu gula sehingga merupakan suatu polar dan larut dalam pelarut-pelarut polar, seperti etanol, metanol, butanol, aseton, air, dan lain-lain (Parwata, 2016).

a. Flavon dan Flavonol

Flavon dan flavonol terdapat dalam tumbuhan tinggi dan menghasilkan pigmen berwarna kuning. Flavon merupakan senyawa flavonoid yang memiliki cincin ketiga berupa gugus

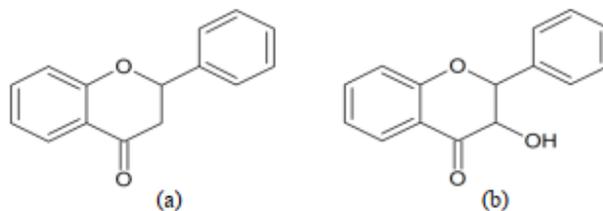
piron. Flavon sering terdapat sebagai glikosida. Flavon dapat disebut fenil benzopiron. Aglikon flavonol yang umum, yaitu : kaemferol, quercetin dan mirisetin. Struktur flavon dan flavonol disajikan pada Gambar 2.2. Flavon berbeda dengan flavonol karena pada flavon tidak terdapat gugus 3- hidroksi (Jana, 2018).



Gambar 2.2 Struktur (a) *flavon* dan (b) *flavonol*

b. Flavanon dan Flavanonol

Senyawa ini jumlahnya sangat sedikit dibandingkan dengan golongan flavonoid lainnya. Pigmen pada kedua senyawa ini hanya berwarna kuning sedikit atau tidak berwarna. Beberapa glikosida flavanon (atau dihidroflavon) yang dikenal, yaitu: hesperidin dan naringin, sedangkan flavanonol (atau dihidroflavonol) merupakan flavonoid yang paling kurang dikenal dan tidak diketahui apakah senyawa ini terdapat sebagai glikosida (Whitehead *et al.*, 1995). Flavan juga sering disebut fenil benzopiran dan memiliki cincin ketiga berupa gugus piran. Seperti pada struktur flavanon dan flavanonol ditunjukkan pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3. Struktur (a) *flavanon* dan (b) *flavanonol*

II.2.2. Peranan *Flavonoid*

Flavonoid termasuk senyawa fenolik alam yang potensial sebagai antioksidan dan mempunyai bioaktivitas sebagai obat. Dalam tubuh manusia *flavonoid* berfungsi sebagai antioksidan sehingga sangat baik untuk pencegahan kanker. Golongan *flavonoid* yang memiliki aktivitas antioksidan meliputi *flavon*, *flavonol*, *isoflavon* dan *flavanon*. *Flavonoid* berperan sebagai antioksidan dengan cara menginduksi aktivitas enzim

nitrit oksida. Komponen antioksidan flavonoid yang tinggi didalam tubuh akan menangkap radikal bebas, sehingga radikal bebas tidak sempat bereaksi dengan nitrit oksida. Keragaman struktur flavonoid memungkinkan turunan senyawa flavonoid berperan sebagai antioksidan, antibakteri, antiinflamasi, atimutagenik, dan antialergi (Kasmui, 2015).

II.3. Khrisin

Khrisin merupakan jenis flavonoid dari ekstrak bunga *Blue passion* (*Passiflora caerulea*), juga terdapat dalam jumlah sedikit dalam sarang tawon dan bunga Trompet India (*Oroxylum indicum*). Struktur Khrisin ditunjukkan pada gambar 2.4 (Kasmui, 2015).



Gambar 2.4. (a) Struktur khrisin 3D dan (b) Struktur khrisin 2D

Khrisin merupakan senyawa turunan flavon yang memiliki aktivitas biologis, memiliki efek farmakologis, seperti antikanker, antimutagenik, antibakteri, antioksidan, antiinflamasi, dan aktivitas pelindung saraf. Namun, *chrysin* memiliki kelarutan air yang rendah, penyerapan yang buruk, dan metabolisme yang cepat setelah glikosilasi, yang dianggap sulit untuk melewati penghalang usus/ hati. Berbagai upaya telah dilakukan untuk mensintesis turunan *chrysin*, seperti pengenalan gugus fungsi seperti halogen, metoksida, asam amino, dan ion logam, bertujuan untuk meningkatkan sifat farmakologisnya. Misalnya, turunan dasar Mannich dari khrisin menunjukkan efek penghambatan moderat terhadap garis sel Hela (serviks), A549 (paru), SGC-7901 (lambung), HCT-116 (usus besar), dan K562 (leukemia) (Zhu *et al.*, 2019).

Dalam penelitian Worachartcheewan & Nantasenamat (2014) 21 turunan khrisin dengan aktivitas antikanker melawan adenokarsinoma lambung manusia (SGC-7901) dan garis sel adenokarsinoma kolorektal manusia (HT-29) digunakan untuk investigasi HKSA. Parameter fisikokimia esensial yang menimbulkan aktivitas antikanker turunan khrisin terhadap SGC-7901 meliputi SIC2, Mor11e, P2p, HTp, dan R5e sementara properti terkait terhadap HT-29 termasuk L/ Bw, BIC2, dan Mor19p.

II.4. Analisis HKSA

Kimia medisinal merupakan suatu perkembangan ilmu pada perancangan obat baru. HKSA merupakan model yang bertujuan untuk mendesain struktur kimia obat agar menghasilkan efek biologis yang bermanfaat tanpa efek biologis yang merugikan. Hubungan kuantitatifnya berupa sifat molekul aktivitas biologisnya, kemudian diperoleh persamaan matematis HKSA. Persamaan yang diperoleh selanjutnya digunakan untuk memprediksi aktivitas senyawa baru, dengan aktivitas biologis yang diduga relatif lebih baik (Walker, 2016).

II.4.1 Model Pendekatan Analisis dalam HKSA

a. Analisis HKSA Model Free-Wilson

Suatu pengembangan konsep hubungan struktur dan aktivitas biologis obat, yang dinamakan model *de novo* atau model matematik Free-Wilson. Respons biologisnya merupakan sumbangan aktivitas dari gugus-gugus substituen aktivitas biologis terhadap senyawa induk, dinyatakan dengan persamaan berikut: (Free and Wilson, 1964).

$$\log 1/C = \Sigma S + \mu$$

Keterangan :

- $\log 1/C$: logaritma aktivitas biologis
- ΣS : total sumbangan substituen terhadap aktivitas biologis senyawa induk

- μ : aktivitas biologis senyawa induk

b. Analisis HKSA Model Hansch

Menurut Hansch (1963), konsep 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 (π), elektronik (σ), dan sterik (E_s). Model pendekatannya biasa disebut model hubungan energi bebas linier (*Linear Free Energy Relationships* = LFER) atau pendekatan ekstra termodinamik, dengan menggunakan dasar persamaan Hammett yang didapat dari kecepatan hidrolisis turunan asam benzoat, sebagai berikut: $\log (k_x/k_h) = \rho \cdot \sigma \rightarrow \log k_x = \rho \cdot \sigma + \log k_h$

Keterangan :

- k_x dan k_h : tetapan keseimbangan reaksi dari senyawa tersubstitusi dan senyawa induk
- ρ : tetapan yang tergantung pada tipe dan kondisi reaksi serta jenis senyawa
- σ : tetapan yang tergantung pada jenis dan kedudukan *substituent*

Parameter sifat fisika kimia yang digunakan pada HKSA Model Hansch adalah parameter hidrofobik, elektronik, dan sterik. Dalam proses distribusi atau transportasi obat, penembusan membran biologis sangat dipengaruhi oleh sifat kelarutan obat dalam lemak atau air, suasana pH, dan derajat ionisasi (pK_a) oleh karena itu, hubungan kuantitatif antara struktur dan aktivitas sering terlibat. Parameter sifat fisikokimia termasuk parameter sterik, hidrofobik dan elektronik. Proses interaksi obat-reseptor sangat dipengaruhi oleh ikatan kimia, kerapatan elektron, ukuran molekul, dan efek stereokimia. Dalam hubungan antara struktur

dan aktivitas, ketiga parameter tersebut dilibatkan, terutama parameter elektronik dan sterik (Siswandodo dan Soekardjo, 1995).

c. Pendekatan Mekanika Kuantum

Mekanika kuantum atau mekanika gelombang memungkinkan orang untuk memahami semua teori tentang materi yang berdasarkan fenomena alam. Materi tersusun atas molekul dan atom, dan setiap molekul dan atom tersusun atas partikel yaitu proton, neutron dan elektron. Mekanika kuantum harus sepenuhnya menggambarkan sifat dasar partikel, karena obat melibatkan perubahan kimia, yang merupakan fenomena dasar molekul obat. Mekanika kuantum menurunkan banyak persamaan yang menunjukkan kemungkinan posisi dan energi partikel dalam atom dan molekul. Kecuali untuk molekul yang paling sederhana, persamaan ini rumit dan sulit untuk dipecahkan. Dengan menyederhanakan penalaran, mudah untuk merumuskan persamaan dalam kasus molekul yang lebih besar. Dapat diperkirakan bahwa elektron dalam suatu molekul berhubungan dengan jangkauan keseluruhan orbital molekul, yang disebut teori orbital molekul. Penggunaan komputer dapat digunakan untuk memperkirakan sifat-sifat molekul besar seperti obat-obatan. Menghitung orbital molekul pada molekul obat dapat memberikan indikasi numerik dari struktur elektronik. Perubahan tertentu yang ditunjukkan oleh angka-angka ini dapat menggambarkan perubahan struktural yang memberikan perubahan aktivitas biologis. Informasi ini berguna bagi para ahli untuk merancang obat baru (Budi, 2010).

d. Metode Semiempirik

Beberapa perhitungan semi empiris masih menggunakan parameter empiris input untuk menyelesaikan persamaan Schrodinger. Keuntungan dari perhitungan semi empiris adalah akurasi hasil yang cukup mendekati nilai eksperimen, dan operasi

perhitungannya tidak memakan waktu yang lama. Beberapa metode semi empiris yang dapat digunakan untuk molekul organik adalah: CNDO (*Complete Neglect of Differential Overlap*), INDO (*Intermediate Neglect of Differential Overlap*), MNDO (*Modified Neglect of Differential Overlap*), AM1 (*Austin Model 1*), dan PM3 (*Parameterized Number 3*) (Budi, 2010).

Metode semi-empiris dikembangkan dalam kerangka matematika dan teori orbital molekul, tetapi menyederhanakan dan mendekati prosedur perhitungan. Metode semi-empiris *Austin Model 1* (AM1) pada kimia komputasi, cukup untuk memprediksi cincin beranggota enam. Selain itu, metode semi-empiris AM1 adalah metode semi-empiris standar untuk menghitung senyawa organik. Beberapa program digunakan dalam kimia komputasi, salah satunya adalah program *Gaussian*. Ada banyak metode dalam program yang dapat digunakan dalam kimia kuantum, salah satunya adalah *Austin Model 1* (AM1). Metode semiempiris AM1 ini tidak memerlukan memori yang besar dan waktu pengerjaan yang lama. Selain itu, metode ini bisa memprediksi molekul-molekul dengan jumlah elektron valensi poly dengan ketepatan yang lebih baik dan mampu menghitung energi yang disebabkan oleh ikatan hidrogen dari atom O dan N. Pada metode AM1 senyawa-senyawa poly valensi dapat diprediksi menggunakan ketepatan lebih baik serta melibatkan atom-atom hidrogen dalam perhitungannya (Imelda, 2020).

II.4.2 Analisis Statistik dalam HKSA

Kajian HKSA, banyak metode statistik multivariat yang dapat dipergunakan dan memperoleh hasil analisis yang memuaskan. Metode dasar yang paling terkenal adalah analisis regresi, yaitu metode yang mengkorelasikan beberapa variabel bebas menggunakan variabel tidak bebas. Meskipun hubungan *linier* sudah cukup akurat,

beberapa penulis melaporkan juga adanya hubungan *nonlinear*. Hubungan *nonlinear* ini dapat berupa hubungan logaritmik yakni model parabolik atau model *bilinear*. Metode statistik yang banyak digunakan dalam kajian HKSA adalah berupa teknik-teknik untuk pengolahan statistik sehingga diperoleh hasil statistika yang akurat (Kasmui, 2015).

1. Korelasi antar variabel

Korelasi adalah mengukur keeratan suatu hubungan, keeratan suatu hubungan ini dinyatakan dengan besaran nilai korelasi (R) yang nilainya berada dalam rentang -1 sampai dengan 1. Korelasi antar variabel digunakan untuk melihat bagaimana hubungan antar variabel. Hal ini dilakukan terutama dengan melihat tingkat pengaruh tiap-tiap deskriptor molekuler terhadap aktivitas antioksidan. Korelasi akan semakin kuat apabila memiliki nilai yang mendekati -1 atau 1. Arah korelasi positif menunjukkan bahwa variabel tersebut sebanding dengan aktivitas, sedangkan arah korelasi negatif menunjukkan korelasi yang berlawanan. Beberapa pakar penelitian telah menggolongkan pedoman dalam menilai koefisien korelasi sebagai berikut (Wibowo, 2012) :

Nilai Interval	Kriteria
0,00-0,20	Sangat Rendah
0,20-0,39	Rendah
0,40-0,59	Cukup
0,60-0,79	Tinggi
0,80-1,00	Sangat Tinggi

2. Analisis Regresi *Multilinear*

Analisis regresi multilinier dalam HKSA menghubungkan variabel bebas x (berupa parameter sifat kimia fisika pada metode Hansch atau nilai variabel

indikator pada metode Free-Wilson) dengan suatu variabel tidak bebas y (parameter aktivitas biologis) (Kubinyi, 1993).

Variabel bebas dapat dinyatakan sebagai berikut: $y = k_0 + k_1x_1 + k_2x_2 + k_3x_3 + \dots + k_mx_m + \epsilon$ dengan notasi k menyatakan parameter regresi dan m adalah jumlah variabel (Gorman and Toman, 1966).

Keabsahan persamaan yang diperoleh dan arti perbedaan parameter yang digunakan dalam hubungan struktur-aktivitas model Hansch, dapat dilihat dengan beberapa kriteria statistik, seperti r , r^2 , F , dan s . Arti kriteria statistik: (Siswandono dan Soekardjo, 1995).

- a. Nilai R (koefisien korelasi) menunjukkan tingkat hubungan antara data aktivitas biologis pengamatan percobaan dengan data hasil perhitungan berdasarkan persamaan yang diperoleh dari analisis regresi. Koefisien korelasi adalah angka yang bervariasi mulai dari 0 sampai 1. Semakin tinggi nilainya 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 struktur-aktivitas dicoba dicapai suatu nilai R yang lebih besar dari 0,9.
- b. Nilai R^2 menunjukkan berapa % aktivitas biologis yang dapat dijelaskan hubungannya dengan parameter sifat kimia fisika yang digunakan. Contoh: suatu hubungan yang mempunyai koefisien korelasi (R) = 0,990 berarti dapat menjelaskan $(0,990) \times 100 \% = 99\%$ dari variasi antar data.
- c. Nilai F menunjukkan kemaknaan hubungan bila dibandingkan dengan tabel F . Makin besar nilai F makin besar derajat kemaknaan hubungan. Nilai F adalah indikator bilangan untuk menunjukkan bahwa hubungan, yang

dinyatakan oleh persamaan yang didapat, adalah benar atau merupakan kejadian kebetulan. Semakin tinggi nilai F semakin kecil kemungkinan hubungan tersebut adalah karena kebetulan.

d. Nilai s (simpangan baku) menunjukkan nilai variasi kesalahan dalam percobaan.

II.4.3 Desain Senyawa Baru

Desain senyawa baru merupakan metode untuk mendapatkan struktur turunan baru. Dalam buku Soekardjo dan Siswandodo (1995) desain senyawa baru biasa dikenal dengan modifikasi molekul yakni pengembangan struktur senyawa induk yang sudah diketahui aktivitas biologisnya, kemudian disintesis dan diuji aktivitas dari homolog atau analognya. Modifikasi molekul ini bertujuan untuk :

1. Mendapatkan senyawa baru yang memiliki aktivitas lebih tinggi, masa kerja panjang, tingkat kenyamanan lebih besar, toksisitas atau efek samping lebih rendah, lebih selektif, lebih stabil dan lebih ekonomis. Selain itu modifikasi molekul digunakan pula untuk mendapatkan senyawa baru yang bersifat antagonis atau antimetabolit.
2. Menemukan gugus farmakofor penting (gugus fungsi), yaitu bagian molekul obat yang dapat memberikan aksi farmakologi.

Dalam pembuatan desain senyawa baru, metode yang digunakan sangat bervariasi, antara lain yaitu penyederhanaan molekul, penggabungan molekul, perubahan dimensi dan kelenturan molekul, serta mengubah sifat fisika kimia molekul. Selain itu dalam modifikasi struktur dilakukan beberapa metode optimasi senyawa penuntun yang cocok dengan senyawa induk hal ini bertujuan untuk mendapatkan senyawa dengan aktivitas yang lebih tinggi dan mengurangi faktor coba-coba seminimal

mungkin sehingga lebih ekonomis. Berikut beberapa metode yang sering digunakan untuk optimasi senyawa penuntun :

- a. Modifikasi struktur model pendekatan Topliss adalah dengan memasukkan gugus-gugus yang mempunyai sifat lipofilik, elektronik dan sterik tertentu. Modifikasi struktur model pendekatan Topliss dikelompokkan menjadi dua, yaitu modifikasi struktur pada cincin aromatik dan pada rantai samping gugus alkil (Topliss, 1974).
- b. Metode pencarian Fibonacci adalah metode yang relatif sederhana, tidak harus menggunakan komputer dan umumnya digunakan untuk modifikasi molekul pada rantai samping senyawa penuntun dalam usahanya mendapatkan senyawa dengan aktivitas biologis yang optimum. Modifikasi melibatkan suatu seri homolog C-alkil, O-alkil, atau N-alkil.
- c. Metode rangkaian optimasi simpleks adalah metode optimasi untuk merancang analog obat dengan dasar pengaturan tertentu dari struktur senyawa yang mempunyai aktivitas biologis sama. Hal ini memerlukan bantuan komputer kecuali dalam kasus dua dimensi (Darvas, 1974).
- d. Analisis Klaster adalah modifikasi dengan mengelompokkan substituen-substituen pada sistem aromatik berdasarkan persamaan nilai-nilai parameter kimia fisika yang telah diketahui. Variabel yang digunakan adalah R, R^2 , F, MR, Mw (Hansch, Unger dan Forsythe, 1973).

II.4.4 Prediksi Toksisitas

Tujuan dari prediksi toksisitas secara *in silico* adalah untuk memprediksi toksisitas kimiawi melalui pemodelan komputasi dan untuk memprediksi algoritme dengan data toksisitas. Prediksi toksisitas dianggap sebagai salah satu alternatif pengujian hewan menggunakan berbagai teknik komputasi yang menghubungkan toksisitas atau

kemanjuran suatu bahan kimia dengan strukturnya. Teknik komputasi memungkinkan untuk memprediksi secara kuantitatif dan kualitatif toksisitas bahan kimia, campuran, bahan nano dan sebagainya (Kar & Leszczynski, 2019).

BAB III. METODE PENELITIAN

III.1. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan April hingga bulan Juni di Laboratorium Komputer Fakultas Farmasi, Universitas Bhakti Kencana Bandung.

III.2. Subyek Penelitian

Penelitian ini digunakan data aktivitas antikanker lambung dari (berapa) sampel senyawa turunan khrisin yang telah mengalami perlakuan penelitian sebelumnya oleh Worachartcheewan & Nantasenamat tahun 2014. Kemudian dilakukan pencarian hubungan antar variabel dengan cara menganalisis data yang telah dikumpulkan.

III.3. Metode Pengumpulan Data

Metode yang digunakan yakni Analisis Kuantitatif Hubungan Struktur Aktivitas (HKSA) senyawa turunan khrisin yang diperoleh dari literatur Worachartcheewan & Nantasenamat tahun 2014 beserta data aktivitas antikanker karsinoma lambung IC_{50} yang dapat dilihat pada Gambar 4.1.

Kemudian dilakukan permodelan digambar 2D dan 3D dengan *ChemBio*. Selanjutnya dilakukan optimasi geometri pada metode semiempiris AM1 dengan *Gaussian* dan didapatkan parameter elektronik (contoh deskriptor : Momen Dipol, E_{homo} dan E_{lumo}) dan parameter sterik (contoh deskriptor : Luas permukaan (pSA), polarisabilitas molekular, Reaktifitas molar (M_R), dan Massa jenis) dan Logaritma Koefisien Partisi (contoh deskriptor : Log P).

III.4. Analisis Data

Analisis statistik kajian HKSA yakni :

1. Analisis korelasi dengan menggunakan program *SPSS for Windows versi 21.0* dilakukan untuk mengetahui hubungan natara variabel bebas dengan aktivitas antikanker.

2. Analisis regresi multivariat dengan menggunakan program *SPSS for Windows versi 21.0* untuk menentukan parameter statistik seperti R , R^2 , SE , dan F dengan menggunakan metode *backward* dan *enter*. Dilakukan variasi variabel untuk memperoleh persamaan HKSA yang terbaik. Hasil yang diperoleh dari masing-masing jumlah variabel, kemudian diambil model yang memiliki nilai R^2 tertinggi sebagai variabel yang digunakan untuk menentukan aktivitas antikanker prediksi dan persamaan HKSA terbaik.
3. Melakukan uji validasi model persamaan HKSA berdasarkan kriteria Hansch dan statistik, ditambah dengan nilai *PRESS* dan validasi silang dengan metode *leave-one-out (LOO)* dengan mendapatkan nilai koefisien validasi q^2 .

III.5. Desain senyawa baru

Pemilihan senyawa induk dari nilai IC_{50} terbaik dan optimasi modifikasi senyawa dengan menggunakan beberapa pendekatan optimasi senyawa penuntun.

III.6. Prediksi Toksisitas

Menggunakan Pre-ADMET berbasis *web* yang merupakan aplikasi berbasis web <https://preadmet.bmdrc.kr/> sehingga dapat diakses dengan mudah melalui berbagai browser. Parameter yang diprediksi antara lain tes ames, karsinogenik dan toksisitas terhadap jantung.