



## In Silico Study of Secondary Metabolite in Asiatic Pennywort (*Centella asiatica*) as a Drug Compound for Blood Cancer (Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL)) Targeting JAK-2 Receptor

Martina Anjelina<sup>✉</sup>, Fahri Renaldi, Kalya Kama Shabira, Selly Trianingrum Febriyanti, Rizky Prasiska Wulandari, Halwa Aulia Nurdin, dan \*Rina Fajri Nuwarda.

Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran Jalan Raya Bandung Sumedang KM 21 Telp. (022)796200 Jatinangor 45363

### Info Artikel

Diterima : 09-07-2024

Disetujui : 20-01-2025

Dipublikasikan : 05-05-2025

#### Keywords:

*Asiatic Pennywort*

*JAK-2 Receptor*

*Molecular Docking*

*Acute Lymphoblastic Leukemia*

### Abstrak

Leukemia limfoblastik akut (LLA) merupakan jenis kanker dengan manifestasi klinis berupa demam, pucat, pendarahan, anak tampak lesu, nyeri tulang dan persendian, adanya pembesaran hati, limpa, dan pembesaran getah bening. salah satu penyebab LLA yaitu akibat mutasi pada reseptor JAK-2. Tujuan studi *In Silico* dengan metode analisis ini untuk pencarian kandidat senyawa baru sebagai terapi LLA pada tanaman Pegagan (*Centella asiatica*) dengan analisis *Lipinski's RO5*, ADME-Tox, pemodelan farmakofor, dan *molecular docking*. Hasil menunjukkan bahwa luteolin dapat dinyatakan sebagai *lead compound* pada tanaman pegagan yang memiliki potensi dalam pengobatan leukemia limfoblastik akut karena interaksinya dengan reseptor JAK-2 dengan konstanta inhibisi sebesar 0.23736 uM dan binding energy sebesar -9,04 kkal/mol. Selain itu, prediksi Lipinski RO5 dan ADME-Tox luteolin juga memenuhi persyaratan untuk dapat dibuat menjadi sediaan oral dan dapat dilakukan penelitian lebih lanjut.

### Abstract

Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) is a type of cancer with clinical manifestations such as fever, pallor, bleeding, children appear lethargic, bone and joint pain, enlarged liver, spleen, and enlarged lymph. One of the causes of ALL is due to mutations in the JAK-2 receptor. The purpose of this *In Silico* study is to find new candidate compounds as ALL therapy in Asiatic Pennywort (*Centella asiatica*) plant by Lipinski's RO5 analysis, ADME-Tox, pharmacophore modelling, and molecular docking. The results showed that luteolin can be declared as a lead compound in Asiatic Pennywort plant that has potential in the treatment of acute lymphoblastic leukemia due to its interaction with JAK-2 receptor with an inhibition constant of 0.23736 uM and binding energy of -9.04 kcal/mol. In addition, the predictions of Lipinski's RO5 and ADME-Tox luteolin also meet the requirements to be made into oral preparations and further research can be carried out.

## Pendahuluan

Kanker adalah sebuah penyakit, dimana terdapat pertumbuhan sel abnormal dalam tubuh manusia yang cenderung menyerang organ tubuh lain. Berdasarkan studi yang sudah ada, pertumbuhan penyakit kanker akan meningkat setiap tahunnya (Afiyah, 2018). Jumlah penderita kanker leukimia pada tahun 2018 di dunia ada sekitar 437.033 jiwa atau setara dengan 4% dari jumlah seluruh pengidap penyakit kanker. Angka pengidap penyakit leukimia di Asia tenggara terdapat sekitar 48.520 jiwa, sementara di Indonesia sekitar 13.498 jiwa. Diperkirakan angka ini akan terus bertambah hingga sekitar 60 % pada tahun 2040 (WHO, 2018).

Leukemia diklasifikasikan berdasarkan perjalanan penyakit yaitu leukemia akut dan leukemia kronis, juga berdasarkan subtype yang terdiri atas leukemia mielositik akut, leukemia mielositik kronis, leukemia limfoblastik akut, dan leukemia limfoblastik kronis (Quixada, *et al.*, 2016). Leukemia limfoblastik akut (LLA) berkontribusi sebagai jenis kanker anak terbanyak dan dapat menyerang berbagai jenis kelamin, juga tingkatan usia di dunia. Manifestasi klinis yang sering dijumpai adalah demam, pucat, pendarahan, anak tampak lesu, nyeri tulang dan persendian, adanya pembesaran hati, limpa, dan pembesaran getah bening. Leukemia limfoblastik akut sendiri merupakan keganasan darah yang ditandai dengan ditemukannya limfoblas dalam darah maupun sumsum tulang belakang. LLA diklasifikasikan menjadi 3 jenis, yaitu L1, L2, dan L3. L1 ditandai dengan sel-sel limfoblas kecil, serupa dengan kromatin homogen, anak inti umumnya tidak tampak dan sitoplasma sempit. L2 ditandai dengan limfoblas yang lebih besar namun ukurannya bervariasi, kromatin lebih kasar dengan satu atau lebih anak inti. L3 ditandai dengan sel limfoblas besar, homogen, kromatin dengan bercak, banyak ditemukan anak inti beserta sitoplasma yang basofilik dan bervakuolisasi (Tarigan, *et al.*, 2019). LLA dapat terjadi karena adanya alterisasi pada reseptor JAK-2. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa reseptor JAK aktif berkontribusi pada perkembangan LLA, sehingga strategi pengobatan senyawa dengan aktivitas penghambatan JAK menjadi salah satu bidang yang paling banyak diteliti dalam proses penemuan obat dan telah mengukir pencapaian besar dalam pengobatan kanker LLA (Downes, *et al.*, 2022).

Secara umum, Janus kinase (JAK) merupakan keluarga tirosin kinase non-reseptor sitoplasma yang mencakup empat anggota, yaitu JAK-1, JAK-2, JAK-3, dan TYK2. JAK mentransduksi sinyal sitokin melalui jalur JAK-STAT, yang mengatur transkripsi beberapa gen yang terlibat dalam kondisi inflamasi, kekebalan, dan kanker. Menargetkan kinase keluarga JAK dengan inhibitor molekul kecil telah terbukti efektif dalam pengobatan berbagai jenis penyakit (Shawky, *et al.*, 2022). JAK-2 merupakan janus tirosin kinase yang berperan dalam transduksi sinyal melalui proses eritropoetin, trombopoietin, faktor stimulasi pembentukan makrofag, dan faktor stimulasi pembentukan granulosit pada sel-sel hematopoiesis, dan juga sebagai transduksi sinyal oleh berbagai reseptor sitokin (Sihombing dkk, 2015).

Kendala penyembuhan umumnya karena penyebaran kanker yang cepat, dan efek samping yang tidak sedikit. Maka dari itu, bahan alam menjadi salah satu pilihan terapi, atau sebagai pengganti bahan baku yang telah ada (DiPiro, *et al.*, 2020). Oleh karena itu, alternatif terapi LLA dari bahan alam yaitu dengan tanaman Pegagan (*Centella Asiatica*) yang dapat diketahui melalui pendekatan *in silico*. Tanaman Pegagan termasuk dari kingdom *Plantae*, subkingdom *Viridiplantae*, divisi *Tracheophyta*, kelas *Magnoliopsida*, ordo *Apiales*, famili *Apiaceae*, genus *Centella* L., dan spesies *Centella Asiatica* L. Tanaman Pegagan tiga golongan bioaktif, yaitu triterpenoid, steroid, dan saponin dengan manfaat sebagai antioksidan, obat lemah syaraf, demam, bronkitis, kencing manis, psikoneurosis, wasir, dan tekanan darah tinggi, dan lebih lanjut berpotensi sebagai antikanker (Yuliana dkk., 2021).

*In silico* sendiri merupakan metode modern yang dilakukan dengan simulasi digital, sehingga dapat mengikuti perkembangan teknologi atau informasi yang tersedia. Metode ini umum digunakan pada bidang kesehatan untuk sampel berupa protein (Khaerunnisa dkk, 2020). *Lipinski's Rule of Five* dapat menentukan apakah suatu senyawa kimia dengan aktivitas farmakologis atau biologis tertentu memiliki sifat kimia dan sifat fisik yang akan membuatnya menjadi obat aktif pada manusia (dijadikan sediaan oral. Dinyatakan bahwa senyawa uji tidak boleh melebihi 500 Da, jumlah ikatan donor dan ikatan hidrogen senyawa harus kurang dari 5, serta akseptor ikatan tidak lebih dari 10 (Roskoski, 2023). Prediksi ADME-Tox dapat memberikan informasi mengenai bioavailabilitas oral, permease sel, metabolisme, eliminasi, dan toksisitas yang menjadi karakteristik farmakokinetik dan farmakodinamik dari sebuah molekul obat. Terakhir, metode penambatan molekular mampu mengidentifikasi kedudukan ligan dengan ukuran yang beragam, menghitung nilai afinitas ikatan, serta memprediksi geometri dan sifat elektronik molekul (Nusantoro dan Fadlan, 2020).

## Metode

Metode yang digunakan berupa studi literatur untuk mengetahui aktivitas dan kandungan metabolit sekunder pada tanaman Pegagan. Selain itu, dilakukan studi literatur untuk menentukan reseptor serta ligan alami yang akan disimulasikan secara komputasi dengan senyawa uji yang telah ditentukan.

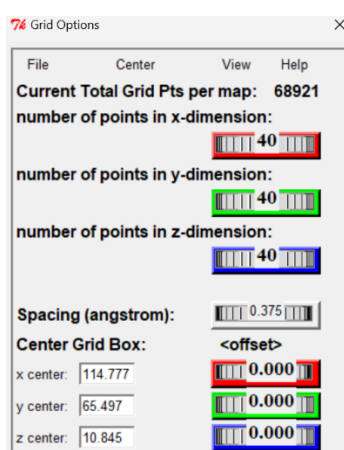
Perangkat yang digunakan yaitu dengan laptop Lenovo V14 G2 ALC AMD Ryzen 5 5500U Radeon Graphics @2.10 GHz RAM 16,00 GB dengan sistem operasi Windows 11 64-bit. Perangkat lunak Chem3D Pro 12.0 untuk menggambar struktur senyawa, Ligandscout untuk pemodelan farmakofor, BIOVIA Discovery Studio 2020 untuk visualisasi protein-ligan, dan Autodock 1.5.7 (*The Scripps Research Institute*, USA) untuk analisis *molecular docking*. Selain itu, situs yang digunakan yaitu situs Dud-e (<https://dude.docking.org/targets>) untuk pencarian protein/reseptor, PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) untuk memperoleh struktur senyawa, SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>) untuk analisis *Lipinski's Rule of Five* (RO5), situs PreADMET (<https://preadmet.bmdrc.kr/>) untuk ADME-Tox, dan situs Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>) untuk mengunduh protein target.

Setelah dilakukan analisis pada tanaman pegagan dan protein target, dilakukan pengujian berdasarkan *Lipinski's Rule of Five* (RO5) untuk melihat sifat fisika kimia ligan menjadi obat sediaan oral. Pengujian dilakukan melalui situs dengan menggunakan struktur ligan dalam 2 dimensi dengan Chem3D Pro 12.0, lalu dianalisis melalui situs SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>). Pengujian meliputi parameter berat molekul, logP, ikatan hidrogen donor, dan ikatan hidrogen akseptor.

Senyawa metabolit sekunder tanaman pegagan juga dilakukan penentuan ADME-Tox dengan situs PreADMET (<https://preadmet.bmdrc.kr/>) yang meliputi absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas pada ligan uji secara satu-persatu, sehingga didapatkan hasil uji berupa %HIA (*Human Intestinal Absorption*), Caco2 (*Cancer coli-2*), BBB (*Blood-Brain Barrier Penetration*), PPB (*Plasma Protein Binding*), dan pada uji toksisitas berupa *Ames Test* (mutagen) dan *Radent Carcinogenicity* (Karsinogen). Uji toksisitas didasarkan pada uji mutagenitas, dan uji karsinogenitas pada hewan uji mencit dan tikus.

Pemodelan farmakofor dilakukan untuk validasi, serta nilai AUC dari kurva ROC yang dapat memperkirakan aktivitas farmakologi dengan keberadaan gugus kromofor. Dilakukan preparasi pada senyawa uji dengan minimisasi energi. Pembuatan *database active* dan *decoy* melalui situs Dud-e (<https://dude.docking.org/targets>). Pada perangkat lunak Ligandscout, semua tipe *active decoy* diubah menjadi *training*, sedangkan senyawa uji diubah menjadi *test*, hingga didapatkan 1 tipe *training* pada setiap cluster, lalu dibuat *cluster*. Sebanyak 10 model dipindahkan ke *Screening Perspective* dan memberi tanda hijau pada *active*, dan merah pada *decoy* dengan hasil akhir berupa kurva ROC. Senyawa uji dengan model terbaik akan dilakukan Perform Screening.

*Molecular docking* dilakukan untuk melihat hasil interaksi antara senyawa metabolit sekunder, atau ligan uji dengan reseptor. Sebelum dilakukan *molecular docking*, dilakukan preparasi protein target dengan PDB ID: 3LPB yang diunduh melalui Protein Data Bank ([www.rcsb.org](http://www.rcsb.org)) dalam format .pdb. Ligan alami dan reseptor dilakukan anhidrasi (menghilangkan molekul air) dan dipisahkan melalui BIOVIA Discovery Studio 2020. Preparasi ligan alami dan ligan uji dilanjutkan pada perangkat lunak Autodock dengan memberikan muatan Gasteiger, penambahan atom hidrogen, penggabungan ligan menjadi non-polar dan penambahan torsi. Pada preparasi reseptor dilakukan dengan penambahan muatan Kallman dan penambahan atom hidrogen polar.



**Gambar 1.** Grid box yang digunakan dalam molecular docking

Reseptor dan ligan yang telah dipreparasi kemudian pengaturan docking. Pengaturan docking dilakukan dengan menentukan ukuran dan posisi gridbox grid coordinate X=114,777 Y=65,497 Z=10,845 dengan ukuran X=40 Y=40 Z=40 yang disimpan dalam format gpf., dan penentuan parameter docking berupa *genetic algorithm* dan *output* dalam Lamarckian GA dengan format file dpf. Pengaturan docking tersebut kemudian digunakan pada validasi re-docking reseptor dengan ligan alami dengan Autodock.

Gridbox dan parameter docking diatur hingga didapatkan nilai Reference RMSD  $\leq 2$  Å serta energi ikatan yang bernilai negatif atau semakin kecil.

Docking dilakukan Genetic Algorithm Lamarckian sebesar 100 pada command prompt (CMD) dengan perintah ke-1 berupa `autogrid4 -p dock.gpf -l dock.dlg`, dan pada perintah ke-2 `autodock4 -p dock.dpf -l dock.dlg`. Hasil docking dapat dilihat melalui perangkat lunak Autodock, dengan visualisasi ligan dan reseptor secara 2D dan 3D melalui BIOVIA Discovery Studio.

### Hasil dan Pembahasan

Tanaman Pegagan mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder, seperti asiaticoside, kaempferol, luteolin, madecassoside, naringin, *betulinic acid*, quercetin, rutin, alpha-pinene, dan beta-caryophyllene. Kesepuluh senyawa metabolit sekunder tersebut kemudian dilakukan prediksi sifat fisikokimia berdasarkan *Lipinski's Rules of Five* (RO5). Pengujian Lipinski RO5 dapat memprediksi sifat fisikokimia suatu ligan dengan menentukan sifat hidrofobik atau hidrofilik pada senyawa untuk dapat memasuki membran sel lipid bilayer melalui difusi pasif. Sifat fisikokimia pada Lipinski RO5 juga dapat memprediksikan kelayakan obat untuk diadministrasikan secara oral dengan syarat tidak boleh melanggar lebih dari satu aturan. Aturan yang harus dipenuhi pada Lipinski RO5 terdiri dari berat molekul tidak boleh lebih dari 500 Da, nilai koefisien partisi (logP) tidak lebih besar dari 5, jumlah ikatan donor harus kurang dari 5, dan akseptor ikatan hidrogen harus kurang dari 10 (Susanti, *et al.*, 2021).

Hasil dari prediksi Lipinski RO5 ke-10 senyawa metabolit sekunder dari tanaman Pegagan disajikan pada **Tabel 1**. Didapatkan 6 senyawa metabolit sekunder dalam tanaman Pegagan yang memenuhi persyaratan Lipinski RO5. Senyawa asiaticoside, madecassoside, naringin, dan rutin melanggar lebih dari satu aturan Lipinski RO5, sehingga tidak dapat didistribusikan secara oral. Senyawa-senyawa tersebut memiliki berat molekul lebih dari 500 Da, serta ikatan hidrogen donor dan akseptor yang lebih besar dari 5 dan 10. Senyawa-senyawa yang memiliki berat molekul lebih besar dari 500 Da tidak dapat berdifusi ke dalam sel, sedangkan pada ikatan hidrogen semakin besar ikatan donor dan akseptor suatu senyawa, maka energi yang dibutuhkan untuk proses absorpsi juga semakin tinggi (Susanti, *et al.*, 2021).

**Tabel 1.** Hasil Prediksi Lipinski Rules of Five

No.	Nama Senyawa	Berat Molekul (< 500 Da)	Log P (<5)	Ikatan Hidrogen		Keterangan
				Donor (<5)	Akseptor (< 10)	
1.	Asiaticoside	959.12152	-1.0328	12	19	Tidak terpenuhi
2.	Kaempferol	286.2363	2.2824	4	6	Terpenuhi
3.	Luteolin	286.2363	2.2824	4	6	Terpenuhi
4.	Madecassoside	975.1	-1.2	13	20	Tidak terpenuhi
5.	Naringin	580.5	-0,5	8	14	Tidak terpenuhi
6.	Betulinic acid	456.70032	7.0895	2	3	Terpenuhi
7.	Quercetin	302.2357	1.988	5	7	Terpenuhi
8.	Rutin	610.5175	-1.871	10	17	Tidak terpenuhi
9.	Alpha-pinene	136.23404	2.9987	0	0	Terpenuhi
10.	Beta-caryophyllene	204.35106	4.7252	0	0	Terpenuhi

*Pre-admet* merupakan pengujian awal yang berfungsi untuk mengetahui farmakokinetik suatu obat meliputi absorpsi, distribusi, metabolisme, dan toksisitas pada suatu senyawa. Absorpsi senyawa ditandai dengan nilai %HIA, sedangkan permeabilitas suatu senyawa ditandai dengan nilai  $Caco2$ . Suatu senyawa dinyatakan mengabsorpsi dengan baik jika nilai %HIA nya tidak kurang dari 70%, dan dapat mengabsorpsi secara moderat jika nilai %HIA 20-70%. Suatu senyawa permeabilitasnya dinyatakan baik apabila memiliki nilai  $CaCO_2$  lebih besar dari 70 dan dinyatakan memiliki kemampuan untuk permeabilitas suatu membran ketika nilainya 4-70, serta dinyatakan memiliki permeabilitas yang buruk ketika nilainya <4% (Hasan, *et al.*, 2021). Senyawa yang memiliki absorpsi dan permeabilitas yang baik adalah kaempferol,

luteolin, *betulinic acid*, alpha pinene, dan beta caryophyllene. Parameter distribusi suatu senyawa dapat dilihat melalui *Plasma Protein Binding* (PPB) dan *Blood Brain Barrier* (BBB). *Plasma Protein Binding* merupakan kemampuan suatu obat untuk berikatan dengan protein dalam darah. Hal ini dapat mempengaruhi distribusi suatu obat yang didistribusikan ke seluruh tubuh (Qiu, *et al.*, 2023). *Plasma protein binding* yang baik memiliki nilai >90%, sedangkan dikatakan buruk jika memiliki nilai <90%. (Praserawati, dkk., 2021). Senyawa yang memiliki plasma protein binding yang baik adalah luteolin, alpha pinene, quercetin, dan beta caryophyllene. Nilai *Blood Brain Barrier* lebih dari 2% menandakan senyawa dapat melewati sawar otak dengan baik, nilai 2-0,1% menandakan senyawa secara moderate dapat menembus sawar otak, dan kurang dari 0,1% menandakan obat tidak dapat menembus sawar otak (Carterpenter, *et al.*, 2014). Obat yang baik memiliki kemampuan untuk menembus sawar otak dengan konsentrasi seminimal mungkin. *Blood brain barrier* memiliki fungsi untuk melindungi sistem saraf pusat dari racun atau patogen yang berasal dari darah. Kebanyakan senyawa aktif akan sulit untuk menembus bbb, sehingga efek samping yang ditimbulkan seminimal mungkin terhadap otak (Wu, *et al.*, 2023). Senyawa yang memiliki nilai BBB tidak menembus otak adalah asiaticoside, madecassoside, naringin, rutin, dan quercetin. Sedangkan, senyawa yang memiliki kemampuan menembus otak secara moderat adalah kaempferol, luteolin, dan quercetin.

Toksistas pada suatu obat terbagi menjadi 2 yaitu toksistas mutagen dan karsinogen. Toksistas mutagen merupakan suatu uji yang dilakukan untuk mengetahui obat terhadap senyawa mutagen. Toksistas mutagen merupakan kemampuan suatu senyawa untuk menyebabkan kerusakan pada materi genetik. (Raaj & Raveendran, 2023). Senyawa yang mengandung non mutagen adalah asiaticoside, madecassoside, naringin, dan rutin. Semua senyawa uji menyebabkan toksistas karsinogenik, kecuali naringin yang tidak mengandung toksistas karsinogenik pada senyawanya. Senyawa yang terbaik dalam distribusi dan adsorpsi serta memiliki toksistas yang rendah adalah luteolin dan kaemperfol. Hal ini dikarenakan kedua senyawa ini memiliki absorpsi dan distribusi yang baik, serta toksistas yang rendah seperti yang ada pada **tabel 2**.

**Tabel 2.** Hasil Pengujian ADME-Tox

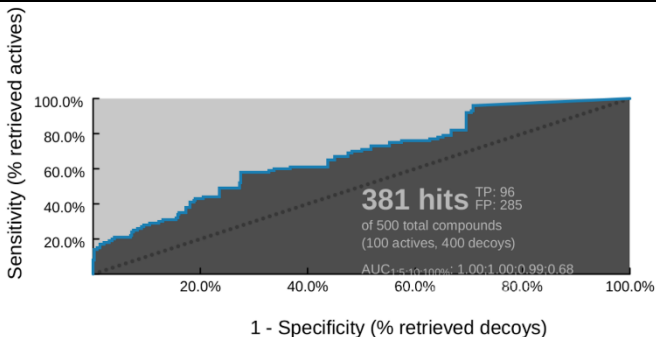
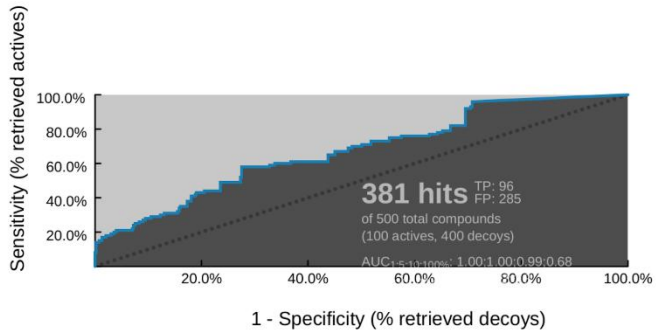
No.	Nama Senyawa	Absorpsi		Distribusi		Mutagen	Toksistas	
		HIA (%)	Caco-2 (nm/sec)	PPB (%)	BBB		Karsinogen	
							Mouse	Rat
1.	Asiaticoside	5.272 908	19.97 72	63.402 343	0.033 1335	Non-mutagen	Positive	Negative
2.	Kaempferol	79.43 9289	9.577 44	89.608 221	0.286 076	Mutagen	Negative	Positive
3.	Luteolin	79.42 7233	4.539 73	99.717 233	0.367 582	Mutagen	Positive	Positive
4.	Madecassoside	0.831 389	19.35 87	33.808 063	0.027 9773	Non-mutagen	Positive	Negative
5.	Naringin	11.74 6560	7.893 81	51.060 018	0.030 3767	Non-mutagen	Negative	Negative
6.	Betulinic Acid	95.99 6396	21.86 16	100	8.197 5	Mutagen	Positive	Positive
7.	Quercetin	63.48 5215	3.412 9	93.236 103	0.172 765	Mutagen	Negative	Positive
8.	Rutin	2.861 176	7.912 67	43.897 909	0.028 5642	Non-mutagen	Positive	Negative
9.	Alpha-pinene	100.0 0000 0	23.63 22	100.00 0000	5.533 3	Mutagen	Negative	Positive
10.	Beta-caryophyllene	100	23.63 15	100	13.31 93	Mutagen	Negative	Positive

Farmakofor merupakan kumpulan fitur sterik dan elektronik yang memiliki peran penting dalam interaksi supramolekul optimal dengan struktur target biologis yang spesifik dalam menghambat respon biologisnya. Pemodelan farmakofor merupakan dasar dalam mendesain suatu obat baru dengan

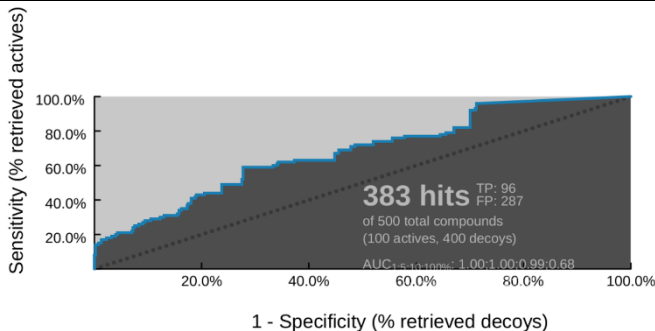
menggunakan metode *ligand-based pharmacophore modeling* atau metode *structure-based pharmacophore design*. Metode *ligand-based pharmacophore* dapat dilakukan dengan menempatkan molekul aktif dan mencari struktur kimia yang penting dalam bioaktivitasnya, sedangkan metode *structure-based pharmacophore design* dilakukan dengan meninjau interaksi yang terjadi antara target dan makromolekul ligan (Qing, *et al.*, 2014). Pada skrining farmakofor dilakukan validasi farmakofor untuk memastikan reliabilitas farmakofor pada aplikasi Ligandscout menggunakan *active set* dan *decoy set* yang terdapat pada senyawa. *Active set* merupakan kumpulan ligan bersifat aktif ketika ditambahkan pada reseptor, sedangkan *decoy set* adalah ligan bersifat mirip dengan active spot tetapi tidak aktif ketika ditambahkan dengan reseptor (Susanti, *et al.*, 2019).

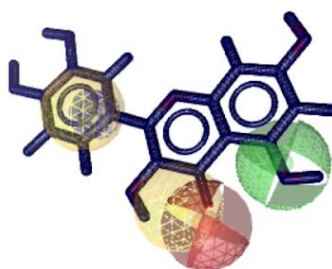
Validasi farmakofor menghasilkan kurva ROC (*Receiver Operating Characteristic*) dengan nilai AUC (*Area Under Curve*). AUC atau *Area Under Curve* merupakan parameter yang menunjukkan variasi konsentrasi suatu obat dalam plasma. AUC ini merupakan sebuah parameter farmakokinetik yang menunjukkan interval waktu obat dan dapat dimanfaatkan dalam pengamatan terapi obat, untuk menentukan nilai formulasi obat-obatan yang baik pada dosis yang sama. Nilai AUC digunakan untuk menentukan model yang digunakan yang memprediksi kelas terbaik. Parameter validasi model farmakofor dinyatakan valid apabila nilai AUC lebih dari 0,50 sehingga dapat mendeteksi set active sebagai senyawa aktif, serta decoy set sebagai senyawa pengecoh oleh model farmakofor (Widyasari, *et al.*, 2022). Selain AUC, ditentukan juga nilai farmakofor fit dari model farmakofor yang hit dengan senyawa yang diuji. Farmakofor fit merupakan parameter yang menunjukkan pengukuran dari model geometri tiga dimensi yang dimana nilai farmakofor ini akan semakin baik apabila nilainya semakin tinggi. Dari 10 model farmakofor dari tanaman Pegagan yang disajikan pada **Tabel 3**, nilai AUC seluruh senyawa berada diatas 0,5 dan nilai tertinggi terdapat pada model 3, 4, dan 5 yaitu sebesar 0,68, sehingga bersifat valid karena sudah memenuhi persyaratan nilai AUC. Didapatkan 3 senyawa yang telah divalidasi dan diprediksi dapat berikatan dengan reseptor JAK-2, yaitu kuersetin, luteolin, dan kaempferol. Skor farmakofor fit tertinggi diperoleh senyawa kaempferol yaitu sebesar 47,47, diikuti kuersetin dan luteolin dengan pharmacophore fit sebesar 35,36 dan 34,91. Nilai farmakofor fit yang semakin besar menunjukkan semakin baik pula efektivitasnya dalam keaktifan untuk berikatan dengan reseptornya (Winardi, *et al.*, 2023).

**Tabel 3.** Hasil Pemodelan Farmakofor

Model	AUC	Nilai AUC	Keterangan
3		0,68	Memenuhi
4		0,68	Memenuhi



Model	AUC	Nilai AUC	Keterangan
5		0,68	Memenuhi



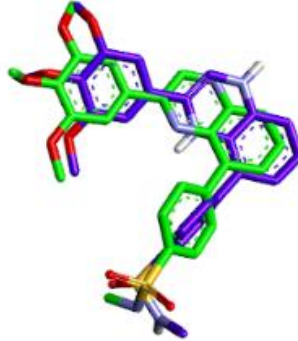
**Gambar 2.** Pemodelan Farmakofor Senyawa Luteolin

*Molecular docking* merupakan suatu proses dalam penemuan obat secara *in silico* untuk menemukan suatu senyawa yang berpotensi memberikan efek terapi. *Molecular docking* dapat memprediksi interaksi ligan-target pada tingkat molekuler, atau menggambarkan hubungan struktur-aktivitas (SAR), tanpa mengetahui secara apriori struktur kimia modulator target lainnya. *Molecular docking* berfungsi sebagai tahap awal untuk mengetahui kecocokan antara ligan dengan reseptor yang akan dievaluasi (Pinzi & Rastelli, 2019).

Proses *molecular docking* dimulai dengan dilakukan preparasi protein target dengan PDB ID: 3lpb yang diunduh melalui Protein Data Bank ([www.rcsb.org](http://www.rcsb.org)) dalam format .pdb. Protein target ini dipasangkan dengan reseptor Tyrosine-protein kinase JAK-2. Ligan alami dan reseptor dilakukan anhidrasi (menghilangkan molekul air) dan dipisahkan melalui BIOVIA Discovery Studio 2020. Penghilangan molekul air dilakukan karena molekul air memiliki kemungkinan untuk berinteraksi dengan reseptor dan ligan, sehingga dapat mengganggu *molecular docking*. Selanjutnya, Preparasi ligan alami dan ligan uji dilanjutkan pada software Autodock dengan memberikan muatan Gasteiger, penambahan atom hidrogen, penggabungan ligan menjadi non-polar dan penambahan torsi. Pada preparasi reseptor dilakukan dengan penambahan muatan Kallman dan penambahan atom hidrogen polar. Simulasi *molecular docking* diawali dengan penentuan gridbox. Penentuan gridbox dilakukan dengan metode *re-docking*. *Re-docking* dilakukan hingga didapatkan RMSD reference  $\leq 2$  Å dengan Genetic Algorithm Lamarckian 10.

Hasil *molecular docking* menandakan bahwa *betulinic acid*, naringin, rutin, luteolin, dan kaempferol merupakan 5 senyawa uji yang memiliki energi ikatan terendah dengan energi ikatan: *betulinic acid*: -11.21 kkal/mol; naringin: -9,97 kkal/mol; rutin: -9.36 kkal/mol; luteolin: -9,04 kkal/mol; dan kaempferol: -8.70 kkal/mol. Kecocokan suatu reseptor dengan ligannya didefinisikan dengan energi ikatan. Semakin rendah nilai energi ikatan, maka ligan tersebut dapat dengan mudah membentuk ikatan dengan reseptornya (Aziz *et al.*, 2016). konstanta inhibisi merupakan faktor penting dalam *molecular docking*. Konstanta inhibisi merupakan suatu nilai yang berpengaruh terhadap konsentrasi yang mendefinisikan kemampuan suatu ligan untuk menghambat aktivitas dari protein atau makromolekul. Semakin kecil konstanta inhibisi, maka semakin kecil konstanta inhibisi, maka konsentrasi untuk menghambat aktivitas protein akan semakin kecil (Ruswanto, *et al.*, 2015). Konstanta inhibisi akan semakin baik jika nilainya semakin rendah. Nilai konstanta inhibisi yang paling baik dari ke 5 senyawa dengan energi ikatan terendah adalah *betulinic acid*: 0.0064 uM; naringin: 0.049 uM; Rutin: 0.13685 uM; luteolin: 0.23736; dan kaempferol 0.42304 uM. Meskipun *betulinic acid* memiliki energi ikatan terkecil, tetapi luteolin tidak memenuhi dalam target senyawa hit pada pemodelan farmakofor dan memiliki %bbb yang tinggi, sehingga

berpotensi menyebabkan toksisitas yang lebih tinggi. Luteolin merupakan senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid yang memiliki aktivitas antikanker. Luteolin berperan dalam apoptosis suatu sel. Sel kanker merupakan gangguan metabolik yang menyerang sel, sehingga sel akan bermutasi dan aktif membelah secara tidak normal. Hal ini juga akan menyebabkan fungsi apoptosis sel menjadi tidak bekerja, sehingga perlu sel tersebut akan aktif membelah dan membuat sel lainnya bermutasi menjadi sel kanker. Flavonoid diketahui dapat mengurangi aktivitas sel kanker dengan menginduksi apoptosis (Amalina, *et al.*, 2023).



**Gambar 3.** Overlay ligan alami sebelum dan setelah *re-docking*

**Tabel 4.** Hasil visualisasi *Molecular docking* pada Luteolin

Visualisasi 2D	Visualisasi 3D
<p><b>Interactions</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li><span style="color: green;">■</span> Conventional Hydrogen Bond</li> <li><span style="color: purple;">■</span> Pi-Sigma</li> <li><span style="color: yellow;">■</span> Pi-Sulfur</li> <li><span style="color: pink;">■</span> Pi-Alkyl</li> </ul>	<p>Keterangan : interaksi antara Luteolin dengan reseptor JAK-2</p>

**Tabel 4** menunjukkan hasil visualisasi secara 2D dan 3D pada senyawa Luteolin. Luteolin merupakan senyawa dengan potensi tertinggi. Hal ini dikarenakan luteolin memenuhi persyaratan lipinski rule of 5, memiliki absorptivitas yang baik dengan % HIA sebesar 79.427233%, dengan *caco2* 4.53973 nm/sec. Hasil absorptivitas ini termasuk kategori baik yang dimana obat ini dapat diabsorpsi dalam usus. Distribusi senyawa luteolin termasuk dalam kategori baik dengan %ppb 99.717233, dengan % bbb sebesar 0.367582% . Distribusi obat ini termasuk kategori baik dan dapat didistribusikan dalam saluran peredaran darah. Akan tetapi, senyawa ini memiliki toksisitas terhadap mutagen dan karsinogen. Senyawa ini memiliki interaksi dengan asam amino berupa ikatan hidrogen dengan GLU A : 930, LEU A : 932, dan ASP A : 939. Senyawa ini juga membentuk interaksi dengan asam amino berupa ikatan selain ikatan hidrogen dan van der waals dengan ALA A : 880 VAL A : 863 MET A : 929 LEU A : 855 LEU A :983 VAL A : 911, dan SER A : 936. Senyawa luteolin merupakan senyawa yang terbaik. Luteolin memiliki %PPB yang rendah, sehingga menimbulkan efek samping yang sedikit terhadap otak, serta dapat diabsorpsi baik dalam tubuh. Senyawa ini juga memenuhi persyaratan dalam rules of five, serta memberikan hasil yang baik dalam *molecular docking*.

## Simpulan

Telah dilakukan pengujian aktivitas senyawa-senyawa pada tanaman Pegagan (*Centella Asiatica*) dalam mengobati leukemia limfoblastik akut (LLA) secara *in silico* menggunakan metode Lipinski *Rules of Five*, penentuan ADME-Tox, pemodelan farmakofor, dan molekular docking. Berdasarkan pemodelan farmakofor dan *molecular docking*, luteolin dapat dinyatakan sebagai lead compound dari senyawa-senyawa pada daun pegagan yang memiliki potensi dalam pengobatan leukemia limfoblastik akut karena



interaksinya dengan reseptor JAK-2 dengan konstanta inhibisi sebesar 0.23736  $\mu\text{M}$  dan energi ikatan sebesar -9,04 kkal/mol. Selain itu, berdasarkan hasil prediksi Lipinski dan ADME-Tox luteolin juga memenuhi persyaratan untuk dapat dibuat menjadi sediaan oral dan dapat dilakukan penelitian lebih lanjut.

### Daftar Referensi

- Afiyah, R. K. 2018. Dukungan Keluarga Mempengaruhi Kemampuan Adaptasi (Penerapan Model Adaptasi Roy) Pada Pasien Kanker Di Yayasan Kanker Indonesia Cabang Jawa Timur. *Journal of Health Sciences*. 10(1):96–105.
- Amalina, N. D., Mursiti, S., dan Marianti, A. 2021. *Pemanfaatan Sumber Daya Alam Indonesia: Ketahanan Pangan, Energi Dan Material Maju*. Edisi ke-1, Diva Press. Bantul. Yogyakarta.
- DiPiro, J. T., Yee, G. C., Posey, L. M., Haines, S. T., Nolin, T. D., dan Ellingrod, V. 2020. *Pharmacotherapy: A Pathophysiologic Approach*. Edisi ke-11. McGraw-Hill. New York. USA.
- Downes, C.E., McClure, B.J., McDougal, D.P., Heatley, S.L., Bruning, J.B., Thomas, D., Yeung, D.T., White, D.L. 2022. JAK2 Alterations in Acute Lymphoblastic Leukemia: Molecular Insights for Superior Precision Medicine Strategies. *Front Cell Dev Biol*. 10:1-34
- Hasan, H. M.A., Khalid, H. A.A., dan Abdulsayid, F. 2021. Infrared(IR) Characterization and Physicochemical Properties of Schiff Base Compound Obtained by the Reaction Between 4-Hydroxy-3-methoxy Benzaldehyde and 2-Amino-3-methylbutanoic Acid. *Journal of Research in Pharmaceutical Science*. 7(3):8- 12.
- Khaerunnisa, S., SUhartati, dan Awaluddin, R. 2020. *Penelitian in Silico untuk pemula*. Edisi ke-1. Airlangga University Press. Surabaya. Indonesia.
- Nusantoro, Y. R. dan Fadlan, A. 2020. Analisis Sifat Mirip Obat, Prediksi ADMET, dan Penambatan Molekular Isatinil-2-Aminobenzoilhidrazon dan kompleks logam transisi Co(I), Ni(II), Cu(I), Zn(II) Terhadap BCL2-XL. *Akta Kimia Indonesia*. 5(2):114-126.
- Prasatiawati R, Suherman M, Permana B, Rahmawati. 2021 Molecular Docking Study of Anthocyanidin Compounds Against Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) as Anti-Lung Cancer. *IJPST*. Vol. 8(1): 8-20.
- Pinzi, L., Rastelli, G. 2019. Molecular Docking: Shifting Paradigms in Drug Discovery. *International Journal of Molecular Sciences*. 20(18):1-23.
- Qing, X., Lee, X. Y., De Raeymaecker, J., Tame, J. R., Zhang, K. Y., De Maeyer, M., *et al.* 2014. Pharmacophore modeling: advances, limitations, and current utility in drug discovery. *Journal of Receptor, Ligand and Channel Research*. 7(1):81-92.
- Qiu, F., Dziegielewska, K.M., Huang, Y., Habgood, M. D., Fitzpatrick, G., dan Saunders, R. N. 2023. Developmental changes in the extent of drug binding to rat plasma proteins. *Science Reports*. 13(1266):1-12
- Quixada, A., Filho, P., Filho, T., Duarte, F. 2016. Pancytopenia during tyrosine kinase inhibitor treatment – coexistence of chronic myeloid leukemia and visceral leishmaniasis: a case report. *Journal of Medic Case Reports*. 10(207):1-4.
- Raaj, G. M. dan Raveendran, R. 2023. *Introduction to basics of pharmacology and toxicology. Volume 1, General and molecular pharmacology: principles of drug action*. Edisi ke-1. Springer. New York. USA.
- Roskoski, R. 2023. Rule of Five Violations Among The FDA-approved Small Molecule Protein Kinase Inhibitors. *Pharmacological Research*. 191:1-12.
- Ruswanto, R., Ratnasari, A., dan Tuslinah, L. 2022. Sintesis senyawa N'-(3,5-dinitrobenzoyl)-isonicotinohidrazide dan studi interaksinya pada mycobacterium tuberculosis enoyl acyl carrier protein reductase (INHA). *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*. 14(1):63-73.
- Shawky, A.M., Almaki, F.A., Abdalla, A.N., Abdelazeem, A.H., Gouda, A.M. 2022. A Comprehensive Overview of Globally Approved JAK Inhibitors. *Pharmaceutics*. 14 (5): 1001.
- Sihombing, K. D., Faradz, S. M. H., Dan Saktini, F. 2015. Gambaran Gen Jak2 Pada Penderita Polisitemia Vera Di Laboratorium Center For Biomedical Research (Cebior) Semarang. *Jurnal Kedokteran Diponegoro*. 4(4) : 1091-1099.

- Susanti, S., Sukmawaty, E., Dan Masriany. 2021. Penambatan Molekuler Senyawa Cendawan Endofit *Trichoderma* Sp. Sebagai Inhibitor Protein Low Density Lipoprotein, Enzim Lanasterol 14-A Demetilase Dan Lipase Yang Bertanggung Jawab Dalam Dermatitis Seboroik. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*. 6(1): 98-107.
- Susanti, N. M. P., Laksmiani, N. P. L., Dewi, P. P. P., Dewi, P. Y. C. 2019. Molecular Docking Terpinen-4-ol pada Protein IKK sebagai Antiinflamasi pada Aterosklerosis secara In Silico. *Jurnal Farmasi Udayana*. 8(1):44-49.
- Tarigan, A.D., Ariawati, K., Widnyana, P. 2019. Prevalensi dan karakteristik anak dengan leukemia limfoblastik akut tahun 2011-2015 di RSUP Sanglah Denpasar. *MEDICINA*. 50(2):391-395.
- Widyasari, A. D., Ramadhan, L. O. A. N., dan Dewi, C. 2022. Pemodelan Farmakofor dan Skrining Virtual dari Database Senyawa Bahan Alam Sebagai Inhibitor Sars-CoV-2 RNA-dependent RNA Polimerase. *Jurnal Pharmacia Mandala Waluya*. 1(6):247-257.
- Winardi, D. O., Alliyah, S. O., Fadilah, S. N., Sirait, J., Putra, H. B. A. Neli et al. 2023. In Silico and In Vitro Studies on Compounds in Turmeric (*Curcuma domestica*) as Anti-inflammatory for Cyclooxygenase-2 (COX-2). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. 1(1):100-111.
- World Health Organization. 2018. *Children And Cancer*. URL:<https://www.who.int/ceh/capacity/cancer>. Diakses tanggal 4 Juni 2024.
- Wu, D., Chen, Q., Chen, X., Han, F., Chen, Z., dan Wang, Y. 2023. The blood–brain barrier: structure, regulation, and drug delivery. *Sig Transduct Target Ther*. 8(217):1-27
- Yuliana, A. Y., Ruswanto, dan Gustaman, F. 2021. *Cegah COVID-19 dengan Meningkatkan Imunitas Tubuh menggunakan TOGA : Tanaman Obat Keluarga*. Edisi ke-1. Jakad Media Publishing. Surabaya. Indonesia.