

**STUDI IN SILICO SENYAWA AKTIF EKSTRAK JAMUR
TIRAM (*Pleurotus ostreatus*) TERHADAP MMP 2
(METALLOPROTEINASE MATRIX 2) SEBAGAI TERAPI
PADA KANKER KOLOREKTAL**

TUGAS AKHIR

Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran



Oleh

Elsafira Akrama Nabilahasna

NIM : 185070101111038

PROGRAM STUDI S1 KEDOKTERAN

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG

2021

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

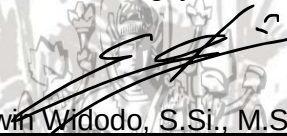
STUDI *IN SILICO* SENYAWA AKTIF EKSTRAK JAMUR TIRAM (*Pleurotus ostreatus*) TERHADAP MMP 2 (*METALLOPROTEINASE MATRIX 2*) SEBAGAI TERAPI PADA KANKER KOLOREKTAL

Oleh :

Elsafira Akrama Nabilahasna
NIM 185070101111038

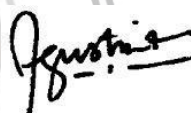
Telah diuji pada
Hari : Jumat
Tanggal : 5 November 2021
dan dinyatakan lulus oleh :

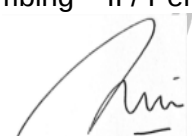
Penguji – I


Edwin Widodo, S.Si., M.Sc, PhD
NIP 198105042005011001

Pembimbing – I / Penguji – II

Pembimbing – II / Penguji – III


Agustina Tri Endharti, SSi, PhD
NIP 196908191998022001


dr. Aulia Rahmi Pawestri,
Ph.D.(Trop.Med.)
NIP 2012018705212001

Mengetahui,
Ketua Program Studi Kedokteran




dr. Tri Wahyu Astuti, M.Kes., Sp.P(K)
NIP 196310221996012001

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Elsafira Akrama Nabilahasna

NIM : 185070101111038

Program Studi : Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran

Universitas Brawijaya

menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil-alihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Tugas Akhir ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Kediri, 18 Oktober 2021

Yang membuat pernyataan,



Elsafira Akrama Nabilahasna

NIM. 185070101111038

ABSTRAK

Nabilahasna, Elsafira Akrama. 2021. **Studi In Silico Senyawa Aktif Ekstrak Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*) Terhadap MMP 2 (Metalloproteinase Matrix 2) Sebagai Terapi Pada Kanker Kolorektal**. Tugas Akhir, Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. Pembimbing : (1) Agustina Tri Endharti, S.Si, Ph.D. (2) dr.Aulia Rahmi Pawestri, Ph.D.(Trop.Med.).

Kanker kolorektal merupakan kanker yang menduduki peringkat ke-tiga dalam jumlah kasus kejadian dan kasus kematian di Amerika Serikat dan Indonesia dengan mortalitas sebesar 9,5 % dari seluruh kasus kanker. MMP berperan penting dalam proses perkembangan, *morphogenesis*, *tissue repair* dan *remodelling*. Disregulasi pada MMP dapat memicu terjadinya kanker. Ekstrak *Pleurotus ostreatus* pada sel Caco-2 (sel kanker kolorektal) manusia mampu mengurangi sekresi MMP-2 dan menghambat invasi sel Caco-2 melalui membrana basal. Peran ini perlu diketahui lebih lanjut secara molekuler. Pada penelitian ini dimaksudkan sebagai penelitian awal untuk mengetahui mekanisme kerja anti kanker pada MMP 2 dari senyawa aktif Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*) *Dehydroergosterol*, *ergosterol*, *Ergosta-7,22-dienol*, *Catechin*, *Quercetin*, *Chrysin*, dan *1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)* sebagai terapi kombinasi dari terapi standar.

Penelitian ini merupakan eksperimental *in silico* melalui metode *docking* menggunakan program PyRx, PASS, *Swiss Target Prediction*, SEA LAB, PyMOL, UCSF Chimera 1.15, *mollinspiration*, *lipinski's filter*, *Ligplot*, *PubChem* dan *PDB*. Hasil *docking* menunjukkan terdapat ikatan antara *Dehydroergosterol*, *ergosterol*, *Ergosta-7,22-dienol*, *Catechin*, *Quercetin*, *Chrysin*, dan *1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)* dan MMP-2 pada sisi pengikatan yang sama dengan ligan kontrol SC-74020 disertai nilai afinitas ikatan yang lebih stabil, dari segi *Drug Likeness* ketujuh senyawa *Pleurotus ostreatus* mampu memenuhi kriteria uji minimal yaitu dengan memenuhi syarat *Lipinski's Rule*. Namun pada Bioavailabilitas oral hanya *Catechin*, *Quercetin*, *Chrysin* dan *1-naphthalenecarboxamide* yang mampu memenuhi kriteria *Veber's Rules* dan *Egan's Rules*.

Hal tersebut dapat dimaknai bahwa ke 7 senyawa dapat berikatan dengan MMP 2, namun sesuai kriteria *drug scan*, hanya 4 senyawa yang berpotensi sebagai antikanker kolorektal per oral.

Kata Kunci : Kanker kolorektal, *Pleurotus ostreatus*, MMP 2, *in silico*.

ABSTRACT

Nabilahasna, Elsaifira Akrama. 2021. ***In Silico Study on Compound Activities of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*) Extract Towards MMP 2 (Metalloproteinase Matrix 2) As Therapeutic In Colorectal Cancer.*** Final Assignment, Medical Program, Faculty of Medicine, University of Brawijaya. Supervisors : (1) Agustina Tri Endharti, S.Si, Ph.D. (2) dr.Aulia Rahmi Pawestri, Ph.D.(Trop.Med.).

Colorectal cancer ranks third in the number of cases and deaths in the United States and Indonesia with a mortality rate is 9.5% of all cancer incidence. MMP plays an important role in the process of *development, morphogenesis, tissue repair, and remodelling*. In addition, *dysregulation* of MMP can cause cancer. Extract of *Pleurotus ostreatus* on Caco-2 cells (colorectal cancer cells) is able to reduce MMP-2 secretion and inhibit the invasion of Caco-2 cells through the basement membrane. The role of *Pleurotus ostreatus* as anti-cancer needs to be further known. This research was intended as an initial study to determine the mechanism of anti-cancer action on on compound activities of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus*) *Dehydroergosterol, ergosterol, Ergosta-7,22-dienol, Catechin, Quercetin, Chrysin, and 1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)* towards MMP 2 as a combination therapy in colorectal cancer.

This research is an *in silico* experimental study using PyRx, PASS, *Swiss Target Prediction*, SEA LAB, PyMOL, UCSF Chimera 1.15, *mollinspiration*, *lipinski's filter*, *Ligplot*, *PubChem* and *PDB* programs. Results from molecular docking showed that there was a bond between *Dehydroergosterol, ergosterol, Ergosta-7,22-dienol, Catechin, Quercetin, Chrysin, and 1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)* toward MMP-2 on the same binding site as the SC-74020 control ligand with a more stable bond affinity value. In addition, 7 compounds of *Pleurotus ostreatus* were able to meet the criteria of *Drug Likeness*. However, on bioavailability oral, only *Catechin, Quercetin, Chrysin and 1-naphthalenecarboxamide* were able to meet the criteria of *Veber's Rules and Egan's Rules*.

This means that the 7 compounds can bind toward MMP 2, but according to the drug scan criteria, only 4 compounds have the potential as per oral colorectal anticancer.

Keywords : Colorectal cancer, *Pleurotus ostreatus*, MMP 2, *in silico*.

DAFTAR ISI

Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Pernyataan Keaslian Tulisan	iii
Kata Pengantar	iv
Abstrak	vii
Abstract	viii
Daftar Isi	ix
Daftar Tabel	xiii
Daftar Gambar	xv
Daftar Lampiran	xvii
Daftar Singkatan	xviii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.4.1 Manfaat Akademik	6
1.4.2 Manfaat Praktis	6
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	7
2.1 Kanker Kolorektal	7
2.1.1 Definisi	7
2.1.2 Epidemiologi	7
2.1.3 Etiologi dan Patogenesis	8
	ix

2.1.4 Manifestasi Klinis	12
2.1.5 Klasifikasi Stadium	13
2.1.6 Tatalaksana Kanker Kolorektal	17
2.1.6.1 Cetuximab	20
2.2 MMP 2	21
2.3 MMP 2 <i>Inhibitor</i>	22
2.4 <i>Pleurotus ostreatus</i>	23
2.5 Studi <i>In Silico</i>	26
2.5.1 Prediksi Sifat Farmakologi Secara <i>In Silico</i>	29
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	32
3.1 Kerangka Konsep Penelitian	32
3.2 Hipotesis Penelitian	34
BAB 4 METODE PENELITIAN	35
4.1 Rancangan Penelitian	35
4.2 Populasi dan Sampel	35
4.3 Tempat dan Waktu Penelitian	36
4.4 Variabel Penelitian	36
4.4.1 Variabel Bebas	36
4.4.2 Variabel Tergantung	36

4.5 Definisi Operasional.....	37
4.6 Alat dan Bahan.....	39
4.6.1 Alat.....	39
4.6.2 Bahan Docking.....	40
4.7 Prosedur Penelitian.....	41
4.8 Analisis Data.....	48
4.9 Alur Penelitian.....	49
BAB 5 HASIL PENELITIAN	50
5.1 Hasil Docking Senyawa Aktif Ekstrak Jamur Tiram terhadap MMP 2	50
5.1.1 Senyawa Aktif Jamur Tiram yang Digunakan dalam <i>Molecular Docking</i>	50
5.1.2 Hasil analisis binding affinity molekul ligan senyawa aktif <i>Pleurotus ostreatus</i> dengan reseptor MMP 2	52
5.1.3 Hasil analisis identifikasi asam amino molekul ligan senyawa aktif <i>Pleurotus ostreatus</i> dengan reseptor MMP 2.....	53
5.2 <i>Screening</i> Ligan Berdasarkan <i>Drug Likeness (Drug Scan)</i>	70
5.3 Hasil screening Bioavailibilitas Oral Standard dan Ligan.....	72
5.3.1 Hasil screening Bioavailibilitas Oral Standard dan Ligan (Veber's Rules).....	72

5.3.2 Hasil screening Bioavailibilitas Oral Standard dan Ligan (Egan's Rules).....	73
BAB 6 PEMBAHASAN	74
6.1 Hasil Docking Senyawa Aktif Ekstrak Jamur Tiram terhadap MMP 2....	74
6.1.1 Senyawa Aktif Jamur Tiram yang Digunakan dalam <i>Docking</i>	74
6.1.2 Hasil analisis binding affinity molekul ligan senyawa aktif <i>Pleurotus ostreatus</i> dengan reseptor MMP 2	77
6.1.3 Hasil analisis identifikasi asam amino molekul ligan senyawa aktif <i>Pleurotus ostreatus</i> dengan reseptor MMP 2.....	78
6.2 Screening Ligan Berdasarkan <i>Drug Likeness (Drug Scan)</i>	79
6.3 Hasil screening Bioavailibilitas Oral Standard dan Ligan.....	81
6.4 Implikasi Terhadap Bidang Kedokteran.....	83
BAB 7 PENUTUP.....	84
7.1 Kesimpulan.....	84
7.2 Saran	84

DAFTAR TABEL

1. Tabel 2.1 Stadium Kanker Kolorektal Menurut AJCC	15
2. Tabel 2.2 Penatalaksanaan pada Kanker Kolon	18
3. Tabel 2.3 Penatalaksanaan pada Kanker Rektum	19
4. Tabel 2.4 Kandungan Gizi Jamur Tiram.....	25
5. Tabel 5.1 Prediksi Bioaktivitas Senyawa Aktif Jamur Tiram (<i>Pleurotus</i> <i>Ostreatus</i>)	51
6. Tabel 5.2 Tabel Hasil Docking Menggunakan PyRx	52
7. Tabel 5.3 Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks <i>dehydroergosterol</i> denga MMP 2	54
8. Tabel 5.4 Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks <i>ergosterol</i> denga MMP 2	56
9. Tabel 5.5 Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks <i>Ergosta-7,22-dienol</i> denga MMP 2	58
10. Tabel 5.6 Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks <i>Catechin</i> denga MMP 2	60
11. Tabel 5.7 Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks <i>Quercetin</i> denga MMP 2.....	62
12. Tabel 5.8 Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks <i>Chrysin</i> denga MMP 2	64
13. Tabel 5.9 Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks <i>1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)</i> dengan MMP 2	66
14. Tabel 5.10 Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks SC-74020 denga MMP 2	68
15. Tabel 5.11 Perbandingan Ikatan Asam Amino pada semua senyawa <i>Pleurotus ostreatus</i> dengan Ligan Kontrol.....	69
16. Tabel 5.12 Hasil Lipinski pada Ligan-ligan <i>Pleurotus ostreatus</i>	71
17. Tabel 5.13 Hasil screening Bioavaililitas oral standard dan Ligan (Veber's Rules)	72

18. Tabel 5.14 Hasil screening Bioavailabilitas oral standard dan Ligan (Egan's Rules)..... 73



DAFTAR GAMBAR

1. Gambar 2.1 Perubahan Morfologis dan Molekuler pada Karsinoma	11
2. Gambar 2.2 Stadium Kanker Kolorektal	16
3. Gambar 2.3 Mekanisme Kerja MMP 2	22
3. Gambar 2.4 <i>Pleurotus ostreatus</i>	25
4. Gambar 2.5 Molecular Docking.....	27
5. Gambar 4.1 Struktur Tiga Dimensi <i>Dehydroergosterol</i>	42
6. Gambar 4.2 Struktur Tiga Dimensi <i>Ergosterol</i>	43
7. Gambar 4.3 Struktur Tiga Dimensi <i>Ergosta-7,22-dienol</i>	43
8. Gambar 4.4 Struktur Tiga Dimensi <i>Catechin</i>	43
9. Gambar 4.5 Struktur Tiga Dimensi <i>Quercetin</i>	44
10. Gambar 4.6 Struktur Tiga Dimensi <i>Chrysin</i>	44
11. Gambar 4.7 Struktur Tiga Dimensi <i>1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)</i>	44
12. Gambar 4.8 Struktur Tiga Dimensi MMP 2.....	45
13. Gambar 4.9 Struktur Tiga Dimensi SC-74020.....	45
14. Gambar 5.1 Visualisasi Kompleks <i>dehydroergosterol</i> dengan MMP 2 ..	53
15. Gambar 5.2 Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks <i>dehydroergosterol</i> dengan MMP 2	54
16. Gambar 5.3 Visualisasi Kompleks <i>ergosterol</i> dengan MMP 2	55
17. Gambar 5.4 Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks <i>ergosterol</i> dengan MMP 2.....	56
18. Gambar 5.5 Visualisasi Kompleks <i>Ergosta-7,22-dienol</i> dengan MMP 2.57	
19. Gambar 5.6 Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks <i>Ergosta-7,22-dienol</i> dengan MMP 2.....	58
20. Gambar 5.7 Visualisasi Kompleks <i>Catechin</i> dengan MMP 2.....	59
21. Gambar 5.8 Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks <i>Catechin</i> dengan MMP 2.....	60
22. Gambar 5.9 Visualisasi Kompleks <i>Quercetin</i> dengan MMP 2	61
23. Gambar 5.10 Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada	

kompleks Quercetin dengan MMP 2	62
24. Gambar 5.11 Visualisasi Kompleks <i>Chrysin</i> dengan MMP 2.....	63
25. Gambar 5.12 Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks <i>Chrysin</i> dengan MMP 2.....	64
26. Gambar 5.13 Visualisasi Kompleks 1- <i>naphthalenecarboxamide</i> , <i>N</i> -(3-chlorophenyl) dengan MMP 2	65
27. Gambar 5.14 Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks 1- <i>naphthalenecarboxamide</i> , <i>N</i> -(3-chlorophenyl) dengan MMP 2	66
28. Gambar 5.15 Visualisasi Kompleks 1 Ligan Kontrol SC-74020 dengan MMP 2	67
25. Gambar 5.16 Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks SC-74020 dengan MMP 2.....	68

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Bagan Kerja	92
Lampiran 2. Tampilan Situs <i>Protein Data Bank</i>	93
Lampiran 3. Tampilan Situs PubChem.....	93
Lampiran 4. Tampilan aplikasi PyRx untuk docking ligan-protein.....	94
Lampiran 5. Tampilan aplikasi PyMOL untuk visualisasi molekul.....	94
Lampiran 6. Tampilan aplikasi Chimera untuk preparasi molekul.....	95
Lampiran 7. Tampilan aplikasi LigPlot untuk identifikasi residu asam amino.....	95
Lampiran 8. Tampilan server Lipinski untuk menganalisa <i>drug likeness</i>	96
Lampiran 9. Tampilan server Molinspiration untuk menganalisa bioavailabilitas oral.....	96
Lampiran 10. Hasil docking <i>dehydroergosterol</i> dengan MMP 2	97
Lampiran 11. Hasil docking <i>ergosterol</i> dengan MMP 2.....	97
Lampiran 12. Hasil docking <i>Ergosta-7,22-dienol</i> dengan MMP 2	97
Lampiran 13. Hasil docking <i>catechin</i> dengan MMP 2.....	98
Lampiran 14. Hasil docking <i>Quercetin</i> dengan MMP 2.....	98
Lampiran 15. Hasil docking <i>Chrysin</i> dengan MMP 2.....	98
Lampiran 16. Hasil docking <i>1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)</i> dengan MMP 2.	99
Lampiran 17. Hasil docking SC-74020 (Ligan kontrol) dengan MMP 2.	99
Lampiran 18. Hasil docking <i>screening</i> 40 senyawa <i>Pleurotus ostreatus</i> dengan MMP 2.	100
Lampiran 19. Hasil Uji <i>Swiss Target Prediction</i> atau <i>SEA LAB (Similarity ensemble approach)</i> dari Senyawa Aktif Jamur Tiram.....	103
Lampiran 20. Tampilan <i>website Swiss Target Prediction</i>	109
Lampiran 21. Tampilan <i>website SEA LAB</i>	110
Lampiran 22. Tampilan <i>website PASS (Prediction of Activity Spectra for Active Substances)</i>	110
Lampiran 23. Prediksi Bioaktivitas Senyawa Aktif Jamur Tiram (<i>Pleurotus ostreatus</i>)	111
Lampiran 24. <i>Databank</i> 40 Senyawa Aktif Jamur Tiram (<i>Pleurotus ostreatus</i>)	111

DAFTAR SINGKATAN

APC	: <i>Adenomatous Polyposis Coli</i>
ECM	: <i>Extracellular Matrix</i>
EGF	: <i>Epidermal Growth Factor</i>
EGFR	: <i>Epidermal Growth Factor Receptor</i>
ERK	: <i>Extracellular signal-regulated kinase</i>
FAP	: <i>Familial Adenomatous Polyposis</i>
HNPC	: <i>Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer</i>
HGF	: <i>Hepatocyte Growth Factor</i>
HIF	: <i>Hypoxia Inducible Factor</i>
HIF-1a	: <i>Hypoxia Inducible Factor-1a</i>
MAPK	: <i>Mitogen activated protein kinase</i>
MEK	: <i>Mitogen-activated Protein Kinase</i>
MMP	: <i>Metaloproteinase Matriks</i>
MMP 2	: <i>Metaloproteinase Matriks 2</i>
MMR	: <i>Mismatch Mechanism Repair</i>
PDB	: <i>Protein Data Bank</i>
SC-74020	: <i>Hydroxamic Acid Inhibitor</i>
VEGF	: <i>Vascular Endothelial Growth Facto</i>

ADME : Absorbtion, Distribution, Metabolism and Excretion

TIMP : Tissue Inhibitor of Metalloproteinases 2

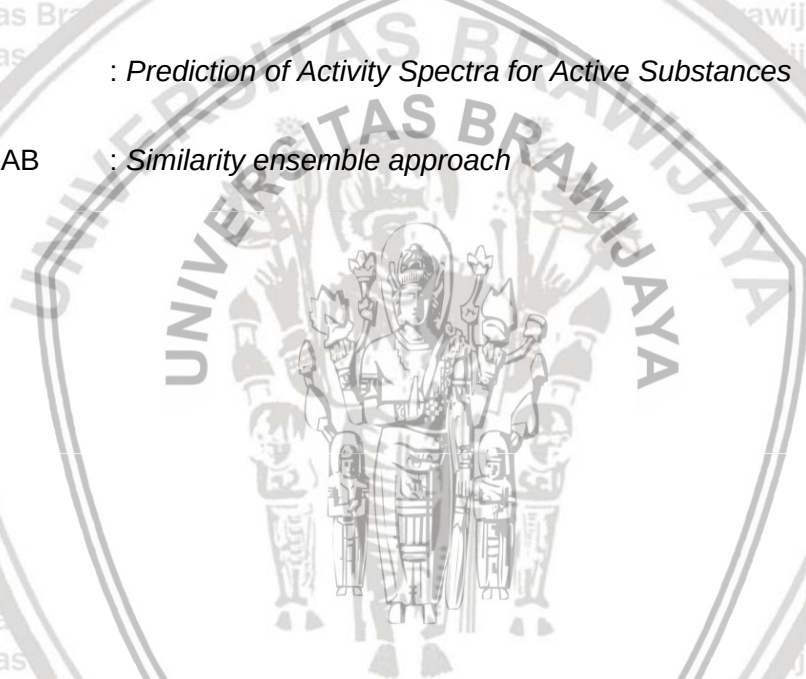
MT1-MMP : Membrane-type 1 matrix metalloproteinase

HGF : Hepatocyte Growth Factor

PPI : Protein – Protein Interaction

PASS : Prediction of Activity Spectra for Active Substances

SEA LAB : Similarity ensemble approach



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker merupakan pertumbuhan sel-sel baru secara abnormal atau pertumbuhan melampaui batas, dan selanjutnya dapat menyerang bagian tubuh dan menyebar ke organ lainnya yang dinamakan metastasis. Kanker kolorektal adalah suatu penyakit keganasan yang terjadi dipermukaan usus besar dan ditandai dengan munculnya jaringan epitel abnormal pada kolon maupun rektum.(Black and Hawks, 2006).

Menurut World Health Organization (WHO), pada tahun 2030, jumlah keseluruhan kasus kanker baru akan menjadi 21,4 juta dan 13,2 juta kematian akibat kanker sebagai akibat dari pertumbuhan dan penuaan populasi (INCA,2014). Kanker kolorektal merupakan kanker yang menduduki peringkat ketiga dalam jumlah kasus kejadian dan kasus kematian di Amerika Serikat. Di Amerika Serikat, estimasi kejadian kanker kolon dan rektum untuk kasus baru sebanyak 75.610 kasus pada laki-laki dan 64.640 kasus pada perempuan. Estimasi kejadian kanker kolorektal untuk kasus kematian sebanyak 27.390 kasus pada laki-laki dan 23.240 kasus pada perempuan (Siegel and Kimberley,2018). Di Indonesia kanker kolorektal merupakan urutan nomor tiga yaitu 12,8 per 100.000 penduduk dewasa dengan mortalitas 9,5 % dari seluruh kasus kanker (Martschick *et al*, 2009).

Patogenesis kanker kolorektal dihasilkan dari proses kompleks bertahap yang berkembang dari transformasi *neoplastic* sel normal, invasi jaringan, intra dan ekstrasvasi vaskular, dan akhirnya berkembang di organ lain. Di semua

jaringan, ECM (*Extracellular Matrix*) menyediakan kerangka struktural dan biokimia untuk penyangga dan perancah sel, dengan berbagai fungsi penting untuk mengatur sinyal inter- dan intra-seluler, dan untuk diferensiasi seluler, adhesi dan invasi. Sel kanker berinteraksi dengan ECM, dan terjadi *remodelling* yang penting untuk migrasi dari situs tumor primer. Protein yang menyusun ECM memainkan peran penting dalam sel proliferasi dan migrasi, dan berbagai protease mengontrol remodeling dan degradasi ECM. Satu kelompok spesifik enzim proteolitik adalah MMP (*Metaloproteinase Matriks*) dan telah dipelajari secara ekstensif sebagai mediator kunci degradasi ECM. MMP adalah protein yang dihasilkan dari proses transkripsi sel yang meregulasi *cell progretion* lalu menstimulasi sel *growth*. (Said *et al*, 2014). MMP merupakan endopeptidase golongan *zinc dependent* yang berperan penting dalam proses degradasi ECM. Degradasi pada ECM penting dalam proses perkembangan, *morphogenesis*, *tissue repair* dan *remodelling*. Namun, apabila terjadi disregulasi maka akan menjadi penyebab dari berbagai macam disease, salah satunya adalah kanker (Bogenrider *et al*, 2003), (Hideaki, *et al*, 2006).

Secara klinis peningkatan ekspresi MMP 2 merupakan nilai prognostik pada kanker kolorektal. Peningkatan ekspresi MMP 2 dapat menyebabkan terjadinya metastasis dan peningkatan keganasan yang didukung oleh adanya peningkatan aktivitas angiogenesis. MMP 2 berperan pula dalam tahap awal perkembangan tumor, yaitu pada lesi-lesi intraepitelial neoplasia. Hal ini didukung oleh adanya peningkatan ekspresi MMP 2 baik pada lesi prekanker dan kanker kolorektal yang sejajar dengan peningkatan derajat neoplasia. Kadar protein MMP 2 diekspresikan pada rasio yang jauh lebih tinggi pada pasien dengan kanker kolorektal. Hasil ini memiliki sensitivitas diagnostik yang lebih besar daripada biomarker lain yang saat

ini digunakan dalam praktik klinis. Sehingga, dipilihnya MMP 2 bertujuan untuk mengetahui bagaimana terapi dalam menghentikan overekspresi MMP 2 pada sel kanker kolorektal (Said *et al*, 2014).

Strategi terapi untuk penghambatan spesifik MMP telah lama diteliti, tetapi sulit untuk dikembangkan dikarenakan enzim ini terlibat dalam berbagai macam jalur. Namun, penghambatan ini dapat dilakukan pada ekspresi biomolekuler dan enzim aktif. Inhibitor dari MMP dapat dibagi menjadi *endogenous inhibitors*, dan *synthetic inhibitors*. TIMP adalah protein endogen yang bertanggung jawab untuk regulasi aktivitas MMP. Dan inhibitor spesifik yang memiliki interaksi kuat dengan MMP2 adalah TIMP2. TIMP2 memiliki empat residu di domain N-terminal dan wilayah CD-loop yang berdekatan, yang memungkinkan interaksi antara TIMP dan MMP2 (Laronha *et al*, 2020).

Inhibitor sintetik dikembangkan dengan MMP sebagai target molekuler yang bertujuan sebagai penemuan agen terapeutik baru. Pengembangan inhibitor MMP sintetik diharapkan mampu meningkatkan efikasi dan mencegah efek samping, yaitu dengan kemampuan gugus fungsi yang mampu mengkelat *zinc ion (II)*-*zinc binding group*. *Zinc binding group* memiliki muatan negatif yang mencegah penetrasi di dalam sel, membatasi aktivitas ke ekstraseluler yang mengurangi toksisitas sel. Perubahan struktur *zinc binding group* atau titik penempelan *zinc binding group* pada inhibitor MMP dapat mengubah potensi dan selektivitasnya.

Banyak strategi telah dikembangkan untuk menciptakan inhibitor MMP yang selektif, salah satunya adalah *endogenous-like inhibitors*, yaitu inhibitor yang memiliki mekanisme menyerupai inhibitor endogen. Salah satu *endogenous-like inhibitors* adalah *Hydroxamid acid Inhibitor* atau SC-74020. Gugus hidroksamik

membentuk interaksi dengan ion seng membentuk distorted triangular bipyramid untuk memblokir kolagenase dan mencegah metastasis (Rangsamy *et al*, 2019).

Terapi konvensional yang biasa digunakan saat ini untuk pengobatan atau pencegahan kanker meliputi pembedahan, kemoterapi dan radioterapi. Pasien biasanya tidak dapat teratasi dengan baik menggunakan terapi yang melibatkan agen kimia dan fisik, baik secara terpisah atau secara gabungan akibat adanya efek samping atau reaksi toksik, dan terapi yang berbiaya tinggi. Sehingga, pencarian terus menerus untuk mengembangkan sistem terapeutik baru yang tidak terlalu agresif dan memiliki reaksi efek samping yang relatif lebih rendah dibandingkan dari perawatan konvensional (Bast, 2000).

Sumber daya alam sudah banyak digunakan sebagai sumber daya dalam tujuan untuk manfaat kesehatan pada manusia yaitu menggunakan obat tradisional. Dilaporkan bahwa lebih dari 60 % agen antikanker yang saat ini digunakan berasal dari sumber alami. Salah satunya yaitu pada jamur tiram yang telah diteliti memiliki senyawa aktif untuk mengobati kanker dan penyakit (Dipan, 2018).

Jamur dari genus *Pleurotus* memiliki khasiat obat seperti modulasi sistem kekebalan tubuh, aktivitas hipoglikemik dan antitrombotik, kemampuan untuk menurunkan tekanan darah dan konsentrasi kolesterol, serta aktivitas anti-inflamasi, antimikroba dan antitumoral (Zhan *et al*, 2011). Ekstrak *Pleurotus ostreatus* pada sel Caco-2 (sel kanker kolorektal) manusia mampu mengurangi sekresi MMP-2 dan menghambat invasi sel Caco-2 melalui membrana basal (Cojocar, 2013). *Pleurotus ostreatus* memiliki senyawa bioaktif seperti *Dehydroergosterol*, *Ergosterol*, *Ergosta-7,22-dienol*, *Catechin*, *Quercetin*, *Chrysin*,

dan 1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl) yang terkait dengan mekanisme aksi anti kanker. Kemungkinan mekanisme kerja zat ini terjadi melalui penghambatan degradasi ECM, penghambatan neovaskularisasi atau angiogenesis, serta pencegahan invasi sel kanker dan metastasis (Mohammed dan Farghaly, 2014) (Dipan, 2018).

Penelitian *in silico* merupakan penelitian yang dilakukan dengan menggunakan simulasi komputer atau uji secara komputasi. *In silico* digunakan sebagai penelitian awal dalam menemukan senyawa obat baru dan meningkatkan efisiensi pada optimasi senyawa induk sehingga diperoleh senyawa yang lebih poten. Keuntungan pada metode ini adalah dapat digunakan dalam memprediksi, memberikan hipotesa dan menjadi suatu penemuan baru dalam suatu pengobatan maupun terapi (Hardjono, 2013).

Pada penelitian ini dimaksudkan sebagai penelitian awal untuk mengetahui mekanisme kerja anti kanker pada MMP-2 dari senyawa aktif Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*) Dehydroergosterol, ergosterol, Ergosta-7,22-dienol, Catechin, Quercetin, Chrysin, dan 1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl) sebagai terapi kombinasi dari terapi standar menggunakan metode *in silico*.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah terdapat senyawa aktif dari Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*) yang dapat berikatan dengan MMP-2 pada sel Kanker Kolorektal secara *In Silico* ?
2. Apakah senyawa aktif Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*) berpotensi sebagai agen terapi Kanker Kolorektal per oral melalui ikatan dengan MMP-2 secara *In Silico*?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengidentifikasi senyawa aktif dari Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*) yang dapat berikatan dengan MMP 2 pada sel Kanker Kolorektal secara *In Silico*.
2. Mengetahui potensi senyawa aktif Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*) sebagai agen terapi pada Kanker Kolorektal per oral melalui ikatan dengan MMP 2 secara *in silico*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

- Memberikan landasan ilmiah mengenai mekanisme Anti kanker dari Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*).

1.4.2 Manfaat Praktis

- Menjadi landasan pengembangan ekstrak Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*) sebagai Anti kanker.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kanker Kolorektal

2.1.1 Definisi

Kanker merupakan pertumbuhan sel-sel baru secara abnormal atau pertumbuhan melampaui batas, dan selanjutnya dapat menyerang bagian tubuh dan menyebar ke organ lainnya yang dinamakan metastasis. Kanker kolorektal adalah suatu penyakit keganasan yang terjadi dipermukaan usus besar dan ditandai dengan munculnya jaringan epitel abnormal pada kolon maupun rektum. (Black and Hawks, 2006).

2.1.2 Epidemiologi

Menurut World Health Organization (WHO), pada tahun 2030, jumlah keseluruhan kasus kanker baru akan menjadi 21,4 juta dan 13,2 juta kematian akibat kanker sebagai akibat dari pertumbuhan dan penuaan populasi, serta diperkirakan terdapat penurunan angka kematian bayi dan kematian akibat dari penyakit menular di negara berkembang. (INCA, 2014)

Kanker kolorektal merupakan kanker yang menduduki peringkat ke-tiga dalam jumlah kasus kejadian dan kasus kematian di Amerika Serikat. Di Amerika Serikat, estimasi kejadian kanker kolon dan rektum untuk kasus baru sebanyak 75.610 kasus pada laki-laki dan 64.640 kasus pada perempuan. Estimasi kejadian kanker kolorektal untuk kasus kematian sebanyak 27.390 kasus pada laki-laki dan 23.240 kasus pada perempuan (Siegel and Kimberley, 2018). Di Indonesia kanker kolorektal merupakan

urutan nomor tiga yaitu 12,8 per 100.000 penduduk dewasa dengan mortalitas 9,5 % dari seluruh kasus kanker (Martschick *et al*, 2009).

Di wilayah Asia, termasuk Indonesia, terjadi peningkatan insiden dan mortalitas kanker kolorektal pada masyarakat yang tergolong mampu. Meskipun perubahan pola makan dan *life style* dipercayai sebagai penyebab utama kenaikan insiden, interaksi antar berbagai macam faktor dan genetik memegang keterlibatan penting. (Josep, 2005). Di Indonesia pasien kanker kolorektal kebanyakan berusia dibawah 50 tahun yaitu sekitar 51% dari seluruh pasien, dan di pasien di bawah 40 tahun mencapai 28,17%. Kejadian kanker kolorektal di Indonesia lebih sering secara sporadik, dimana pasien tidak memiliki riwayat keluarga, tetapi dalam perjalanannya menjadi kanker. Kehidupan di kota besar membuat banyak orang sulit menyesuaikan gaya hidup sehat, juga menjadi penyebab terjadinya kanker kolorektal. Kurang berolahraga, minum alkohol, obesitas, dan kebiasaan merokok menjadi pemicu kanker jenis ini sehingga angka kejadian kanker pada usia muda meningkat (Abdullah, 2009).

2.1.3 Etiologi dan Patogenesis

Perkembangan kanker kolon dan rektum dipengaruhi faktor lingkungan dan faktor genetik. Sebesar 15–20 % kanker kolorektal terjadi dipengaruhi faktor genetik dan 80-85 % dari faktor lingkungan. Genetik berperan besar pada sindrom hereditier *Familial Adenomatous Polyposis* (FAP) dan *Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer* (HNPCC). Mutasi genetik melibatkan APC (*Adenomatous Polyposis Coli*) akan menghasilkan protein yang berperan pada aktivasi onkogen *c-myc* dan *cyclin D1*.

Sehingga akan memicu progress dari lesi pramaligna menjadi maligna.

Kanker kolorektal yang sporadis muncul setelah membutuhkan proses yang lebih panjang dan disebabkan oleh faktor lingkungan (Rani, 2011).

Mutasi dari gen APC mempengaruhi individu membawa resiko hampir 100% mengembangkan kanker usus besar pada usia 40 tahun.

(Tomislav, 2009). Banyak faktor yang dapat meningkatkan resiko terjadinya kanker kolorektal, diantaranya adalah Usia, diagnosis kanker kolorektal meningkat progresif sejak usia 40 tahun dan meningkat tajam setelah usia 50 tahun (Ries, 2008). Faktor Lingkungan juga dipertimbangkan meliputi faktor pola hidup, sosial, dan kultural. Faktor risiko yang dapat dimodifikasi meliputi Pola diet dan nutrisi, aktivitas fisik dan obesitas, Merokok dan Alkohol. (Yuansun, 2015)

Tahap perubahan pada kanker kolorektal awalnya berupa polip pada jaringan epitel kolon dan rektum dapat bersifat jinak (hyperplastic polip), lalu pembentukan adenoma yang merupakan tumor yang belum mendesak jaringan sekitarnya atau masih pada tahap semi ganas dan selanjutnya adalah tahap karsinoma, yaitu tumor yang mulai mendesak jaringan sekitar atau malignant (ganas). Perubahan pada genetika berperan penting dalam perubahan sel epitel. Secara molekular karsinogenesis, terdapat beberapa studi yang mencadangkan mekanisme evolusi kanker. Terdapat 2 jalur patogenik yaitu Chromosomal Instability (CIN) dan Microsatellite Instability (MIN). Pada keduanya terdapat mutasi multiple tetapi terdapat perbedaan pada gen yang terlibat dan mekanisme akumulasi mutasi (Kumar et al, 2013).

Akumulasi mutasi bertahap (Chromosomal Instability) pada jalur APC/ β katein dikaitkan dengan terjadinya mutasi bertahap pada serangkaian onkogen dan tumor suppressor gen yang berperan dalam proliferasi maupun apoptosis sel seperti APC, K-ras, dan p53. CIN terjadi pada 80% kanker kolorektal (Gambar 2.1). Pada jalur CIN terjadi proliferasi lokal epitel kolon menjadi adenoma progresif yang akan menjadi lesi displastik dan invasif (Kumar et al, 2013). CIN melibatkan beberapa jalur yaitu jalur KRAS, jalur β -catenin dan jalur p53 (Rompis, 2020).

KRAS akan teraktivasi saat ada ligan yang berikatan dengan EGFR (*Epidermal Growth Factor*) namun akan menjadi non-aktif apabila tidak ada ligan yang terikat. Pada saat ligan berikatan dengan EGFR, KRAS akan meneruskan sinyal dari EGFR menuju molekul lain yaitu BRAF, lalu menuju *mitogen-activated protein kinase* (MEK) dan extracellular signal regulated (ERK) setelah itu sinyal akan diteruskan menuju nukleus agar terjadi proses proliferasi, diferensiasi dan adaptasi dari sel (Jalur MAPK).

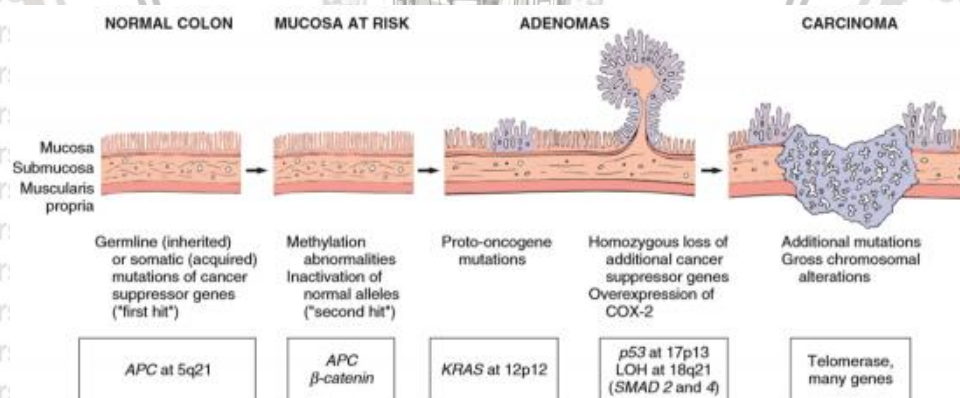
KRAS tidak sepenuhnya berfungsi secara normal dalam meregulasi jalur MAPK. Pada kanker kolorektal ditemukan 30% -50% gen KRAS mengalami mutasi. Adanya mutasi pada KRAS membuat protein ini selalu dalam keadaan aktif. Sehingga KRAS akan tetap terjadi pengiriman sinyal dan pengaktifan berbagai jalur lain seperti proliferasi sel, adaptasi dari sel dan pertumbuhan selular (Rompis, 2020).

Pada jalur yaitu jalur β -catenin dapat terjadi aktivasi jalur secara abnormal yang dapat ditemukan pada perkembangan kanker kolorektal.

Jalur β -catenin yang tidak normal ditandai dengan adanya mutasi pada kromosom 5q yang mengkode protein APC sebagai regulator negatif dari

β -catenin dalam sitoplasma. Hampir sekitar 90% kasus kanker kolorektal disebabkan oleh adanya mutasi pada jalur ini, khususnya mutasi pada APC. Akibatnya, terjadi aktivitas berlebihan dalam progresi dan proliferasi pada sel (Rompis, 2020).

Pada jalur Chromosomal Instability yang terakhir adalah jalur p53. Hilangnya fungsi p53 berperan dalam karsinogenesis kanker kolorektal. p53 berfungsi sebagai tumor suppressor gen dan berperan penting pada aktivitas selular seperti siklus sel, perbaikan DNA dan apoptosis. p53 juga memberikan respon terhadap stres oksidatif, proliferasi sel abnormal, dan menghentikan siklus sel pada sel yang rusak hingga sel ini dapat diperbaiki. Adanya disfungsi p53 akan menyebabkan perkembangan kanker kolorektal (adenoma menjadi karsinoma). Terjadinya mutasi pada gen p53 menstimulasi aktivitas proliferasi sel yang tinggi sehingga berujung pada hilangnya kontrol siklus sel dan apoptosis (Rompis, 2020).



Gambar 2.1 Perubahan morfologis dan molekuler pada karsinoma. Dimulai dari normal colon yang terjadi mutasi secara *germline* atau *somatic* pada *cancer suppressor genes* (*first hit*) hingga mukosa yang beresiko dengan inaktivasi alel normal APC (*second hit*), kemudian munculnya mutasi lain pada *adenomas* yang melibatkan mutasi *Proto-oncogene*, hilangnya *additional cancer suppressor genes* dan overekspresi COX-2 hingga akhirnya menyebabkan munculnya *carcinoma* (Sumber : Kumar et al, 2013).

Pada jalur Microsatellite instability (MSI) terjadi inaktivasi dari gen *mismatch mechanism repair* (MMR) ataupun mutasi pada gen MLH1, MSH2, dan PMS2. Inaktivasi dari gen MMR mempengaruhi proses dan kinerja sistem perbaikan pada DNA sehingga menyebabkan pada kesalahan replikasi. Kesalahan pada replikasi berdampak secara langsung pada jalur molekular lainnya seperti tumor suppressor gene dan apoptosis sel (Rompis, 2020).

2.1.4 Manifestasi Klinis

Sebagian kanker kolorektal terlambat terdiagnosis dan baru diketahui pada usia 50 tahun ke atas sehingga sudah memasuki stadium lanjut dan memiliki prognosis yang buruk. Gejala yang paling sering dikeluhkan pasien adalah perubahan pola BAB (Buang Air Besar), perdarahan pada anus (*hematoskezia*), dan konstipasi. Kanker kolorektal diketahui berkembang lambat hingga bertahun-tahun. Gejala fisik timbul sebagai bagian dari komplikasi kanker kolorektal, yaitu obstruksi dan perdarahan karena invasi kanker. Obstruksi kolon biasanya ditemukan di kolon transversum. *Obstruksi parsial* diawali dengan adanya nyeri abdomen, sedangkan obstruksi total akan menyebabkan mual, muntah, dan obstipasi. Kanker kolorektal dapat menyebabkan perdarahan. Umumnya perdarahan yang tampak hanya tersamar, namun beberapa kasus ditemukan adanya hematoskezia yang sering ditemukan pada tumor distal. Pada tumor proksimal sering disertai dengan *iron deficiency anemia*. Akut abdomen dapat terjadi apabila terdapat perforasi akibat tumor. Metastasis jauh ke hepar dapat menimbulkan nyeri perut, ikterus, dan hipertensi portal (Rani, 2011).

Studi yang dilakukan di Pakistan menemukan frekuensi tumor di kolon sisi kiri lebih banyak daripada di sisi kanan. Lokasi yang paling sering dijumpai adalah rektum, diikuti oleh rectosigmoid junction, dan sekum. Gejala klinis awal yang paling sering ditemukan adalah perdarahan per rektal, obstruksi, dan nyeri perut. Gejala yang umum ditemukan pada tumor di kolon kiri adalah perdarahan per rektal, konstipasi, nyeri perut kronis, dan tenesmus sementara sisi kanan menimbulkan gejala seperti nyeri perut, penurunan berat badan, konstipasi, dan nyeri perut kronis (Riaz, *et al* 2017).

Prognosis yang buruk salah satunya dapat dilihat dari diferensiasi yang abnormal pada gambaran histologis. Terdapat dua faktor prognosis paling penting pada kanker kolorektal yaitu invasi dan ada atau tidaknya metastasis terutama pada kelenjar getah bening. Berkurangnya angka harapan hidup pasien secara signifikan dapat ditandai dengan invasi yang sudah menuju ke dalam muscularis propria, dan akan semakin memburuk apabila terjadi metastasis pada kelenjar getah bening. Dengan reseksi nodul tumor, pasien dengan sejumlah kecil tumor metastasis dapat bertahan hidup lebih lama. Namun hal ini tetap bergantung pada berbagai macam faktor seperti heterogenitas klinis dan molekular kanker kolorektal. Metastasis dapat menyebar ke seluruh bagian organ dari yang terdekat dan yang paling umum pada kanker kolorektal adalah hati (Kumar *et al*, 2013).

2.1.5 Klasifikasi Stadium Kanker Kolorektal

Klasifikasi pentahapan kanker digunakan untuk menentukan luas atau ekstensi kanker dan nilai prognostik pasien. Sistem yang paling

banyak digunakan adalah sistem TNM American Joint Committee on Cancer (AJCC) 2010 (Tabel 2.1).

Penjelasan dari klasifikasi TNM dan definisinya :

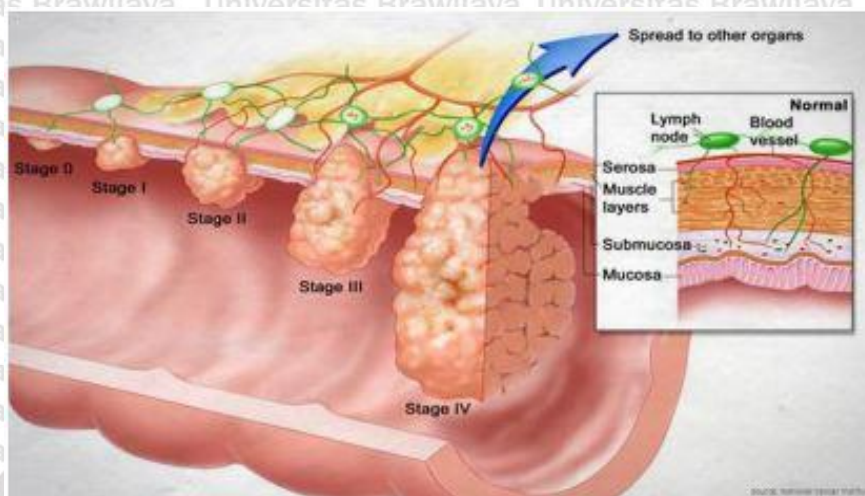
(T) Tumor primer. Tx : tumor primer tidak didapatkan. T0 Tidak ada bukti adanya tumor primer. Tis Carcinoma in situ: intraepithelial atau invasion dari lamina propria T1 Tumor menginvasi submucosa. T2 Tumor menginvasi muscularis propria. T3 Tumor menginvasi melalui muscularis propria sampai pericorectal tissues. T4a Tumor melakukan penetrasi ke permukaan dari visceral peritoneum. T4b Tumor secara langsung menginvasi atau is adherent ke organ-organ lain (Edge, 2010).

(N) Kelenjar Getah Bening. Nx : Kelenjar limfe regional tidak didapatkan. N0 No Tidak ada metastasis pada kelenjar limfe. N1 Metastasis pada 1–3 regional dari limfe. N1a Metastasis pada 1 regional dari limfe. N1b Metastases pada 2–3 regional dari limfe. N1c Tumor deposit(s) pada subserosa, mesentery, atau nonperitonealized pericolic atau perirectal tissues tanpa metastasis nodul regional. N2 Metastasis pada ≥ 4 regional dari limfe. N2a Metastases pada 4–6 regional dari limfe. N2b Metastasis pada ≥ 7 regional dari limfe (Edge, 2010).

(M) Metastasis. M0 Tidak ada bukti adanya metastasis. M1 Didapatkan metastasis yang telah mencapai organ. M1a Metastasis menyebar pada 1 organ (contoh : liver, paru-paru, ovary, nonregional node). M1b Metastases pada lebih dari 1 organ (Edge, 2010).

• **Tabel 2.1 Stadium Kanker Kolorektal Menurut American Joint Committee on Cancer (AJCC) 2010**

Stage	T	N	M
0	Tis	N0	M0
I	T1	N0	M0
	T2	N0	M0
IIA	T3	N0	M0
IIB	T4a	N0	M0
IIC	T4b	N0	M0
IIIA	T1-T2	N1/N1c	M0
	T1	N2a	M0
IIIB	T3-T4a	N1/N1c	M0
	T2-T3	N2a	M0
	T1-T2	N2b	M0
IIIC	T4a	N2a	M0
	T3-T4a	N2b	M0
	T4b	N1-N2	M0
IVA	ANY T	ANY N	M1a



Gambar 2.2 Stadium kanker kolorektal. Klasifikasi kanker kolorektal dibagi dari stadium 0 hingga stadium 4 yang berfungsi penting dalam menentukan tatalaksana dan menilai prognosis (Sumber : National Cancer Institute, 2006).

Kegunaan dari penentuan klasifikasi stadium adalah untuk menentukan terapi yang sesuai. Karena terapi bergantung pada lokasi, ukuran, stadium dan faktor kesehatan dari pasien. Klasifikasi stadium kanker menurut National Cancer Institute, 2006:

Stadium 0 : kanker terjadi hanya pada lapisan terdalam dari kolon atau rektum.

Stadium I: sel kanker telah tumbuh pada dinding dalam kolon atau rektum, tapi belum menembus ke luar dinding.

Stadium II: sel kanker telah menyebar ke dalam lapisan otot dari kolon atau rektum. Tetapi sel kanker di sekitarnya belum menyebar ke kelenjar limfa.

Stadium III: kanker telah menyebar ke satu atau lebih kelenjar limfa di daerah tersebut, namun belum menyebar ke organ tubuh yang lain.

Stadium IV: kanker telah menyebar ke organ-organ tubuh lain, seperti hati dimana terjadi penyebaran paling sering, paru-paru, atau pada tulang (National Cancer Institute, 2006).

2.1.6 Tatalaksana Kanker Kolorektal

Penatalaksanaan kanker kolorektal bersifat multidisiplin. Pilihan dan rekomendasi terapi tergantung pada beberapa faktor, seperti lokasi, ukuran, stadium dan faktor kesehatan dari pasien. Terapi bedah merupakan modalitas utama untuk kanker stadium dini dengan tujuan kuratif. Kemoterapi adalah pilihan pertama pada kanker stadium lanjut dengan tujuan paliatif. Radioterapi merupakan salah satu modalitas utama terapi kanker rektum. Saat ini, terapi biologis (targeted therapy) dengan antibodi monoklonal telah berkembang pesat dan dapat diberikan dalam berbagai situasi klinis, baik sebagai obat tunggal maupun kombinasi dengan modalitas terapi lainnya. Penatalaksanaan kanker kolorektal dibagi menjadi penatalaksanaan pada kanker kolon (tabel 2.2) dan pada kanker rektum (tabel 2.3) (Komite Penanggulangan Kanker Nasional, 2015).

• Tabel 2.2 Penatalaksanaan pada Kanker Kolon Menurut Komite Penanggulangan Kanker Nasional Tahun 2015

Stadium	Terapi
Stadium 0 (TisN ₀ M ₀)	-Eksisi lokal atau polipektomi sederhana -Reseksi en-bloc segmental untuk lesi yang tidak memenuhi syarat eksisi lokal
Stadium I (T ₁₋₂ N ₀ M ₀)	- <i>Wide surgical resection</i> dengan anastomosis tanpa kemoterapi ajuvan
Stadium II (T ₃ N ₀ M ₀ , T _{4a-b} N ₀ M ₀)	- <i>Wide surgical resection</i> dengan anastomosis -Terapi ajuvan setelah pembedahan pada pasien dengan risiko tinggi
Stadium III (T apapun N ₁₋₂ M ₀)	- <i>Wide surgical resection</i> dengan anastomosis -Terapi ajuvan setelah pembedahan
Stadium IV (T apapun, N apapun M ₁)	-Reseksi tumor primer pada kasus kanker kolorektal dengan metastasis yang dapat direseksi -Kemoterapi sistemik pada kasus kanker kolorektal dengan metastasis yang tidak dapat direseksi dan tanpa gejala

• **Tabel 2.3 Penatalaksanaan pada Kanker Rektum Menurut Komite**

Penanggulangan Kanker Nasional Tahun 2015

Stadium	Terapi
Stadium I	Eksisi transanal (TEM) atau Reseksi transabdominal + pembedahan teknik TME bila risiko tinggi, observasi.
Stadium IIA-IIIC	Kemoradioterapi neoajuvan, Reseksi transabdominal (AR atau APR) dengan teknik Eksisi transanal (TEM) dan terapi ajuvan.
Stadium IIIC dan/atau locally unresectable	Neoajuvan jangka panjang, reseksi transabdominal + teknik TME bila memungkinkan dan Ajuvan.
Stadium IVA/B (metastasis dapat direseksi)	Kombinasi kemoterapi atau Reseksi staged/synchronous lesi metastasis+ lesi rektum. Lakukan pengkajian ulang untuk menentukan stadium dan kemungkinan reseksi.
Stadium IVA/B (metastasis borderline resectable)	Kombinasi kemoterapi, lakukan penilaian ulang untuk menentukan stadium dan kemungkinan reseksi.
Stadium IVA/B (metastasis synchronous tidak dapat direseksi)	Bila simptomatik, terapi simptomatis: reseksi atau stoma atau kolon stenting, lanjutkan kemoterapi paliatif untuk kanker lanjut. Bila asimtomatik berikan terapi non-bedah lalu kaji ulang untuk menentukan kemungkinan reseksi.

2.1.6.1 Cetuximab

Empat cara penanganan kanker secara umum ialah pembedahan, radiasi, kemoterapi dan terapi biologis. Pembedahan masih tetap merupakan pilihan utama terutama untuk kanker dengan tumor solid yang terdiagnosis dalam stadium dini. Pembedahan dan radiasi merupakan terapi yang bersifat lokal, dan akan memberikan hasil yang baik bila kanker benar-benar masih terlokalisir, sedang untuk kanker yang sudah bermetastases, kedua terapi ini sering kali mengalami kegagalan. Kemoterapi termasuk hormonal dapat mencapai sirkulasi sistemik dan secara teoritis diperkirakan dapat menjangkau tumor primer dan juga metastasesnya. Akhir-akhir ini muncul sediaan biologis yang menyangkut sistem kekebalan, misalnya interferon dan interleukin (ILs) dan terapi targeted misalnya antibodi monoklonal, yang dapat memberikan efek yang lebih luas (Yasavati, 2014).

Cetuximab merupakan terapi standar berupa antibodi monoklonal chimeric mouse/rekombinan manusia yang mengikat secara spesifik reseptor faktor pertumbuhan epidermal (EGFR) dan secara kompetitif menghambat ikatan EGF dan ligan lain. Ikatan dengan EGFR akan menghambat fosforilasi dan aktivasi reseptor kinase terkait, menghasilkan hambatan pertumbuhan sel, *induksi apoptosis*, dan penurunan *matrix metalloproteinase* serta produksi VEGF (Van Custem *et al*, 2009).

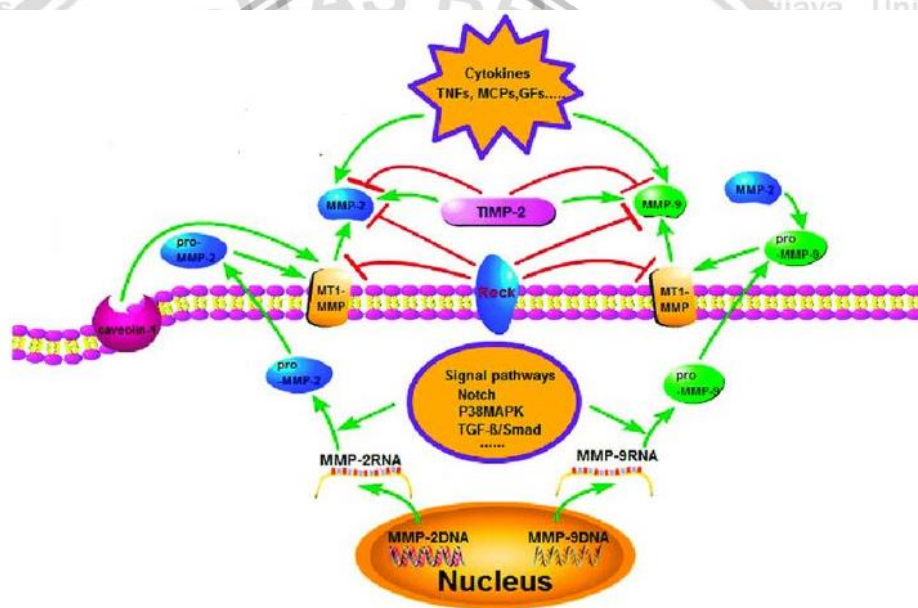
2.2 MMP 2

Patogenesis kanker kolorektal dihasilkan dari proses kompleks bertahap yang berkembang dari transformasi *neoplastic* sel normal, invasi jaringan, intra dan ekstrasvasasi vascular (migrasi sel kanker), dan akhirnya berkembang di organ lain. . Di semua jaringan, matriks ekstraseluler (ECM) menyediakan kerangka struktural dan biokimia untuk penyangga dan perancah sel, dengan berbagai fungsi penting untuk mengatur sinyal inter- dan intra-seluler, dan untuk diferensiasi seluler, adhesi dan invasi. Sel kanker berinteraksi dengan ECM, dan terjadi *remodelling* yang penting untuk migrasi dari situs tumor primer. Protein yang menyusun ECM memainkan peran penting dalam sel proliferasi dan migrasi, dan berbagai protease mengontrol remodeling dan degradasi ECM. Satu kelompok spesifik enzim proteolitik adalah matriks metaloproteinase (MMP) dan telah dipelajari secara ekstensif sebagai mediator kunci degradasi ECM. MMP adalah protein yang dihasilkan dari proses transkripsi sel yang meregulasi *cell progretion* lalu menstimulasi sel growth (Said *et al*, 2014).

MMP merupakan endopeptidase golongan *zinc dependent* yang berperan penting dalam proses degradasi ECM. Degradasi pada ECM penting dalam proses perkembangan, *morphogenesis*, *tissue repair* dan *remodelling*. Namun, apabila terjadi disregulasi maka akan menjadi penyebab dari berbagai macam disease, salah satunya adalah kanker (Bogenrider *et al*, 2003), (Hideaki, *et al*, 2006). Dalam berbagai jenis kanker, peningkatan ekspresi MMP dan aktivasi umumnya meningkatkan tanda adanya perkembangan tumor termasuk angiogenesis, invasi dan metastasis, dan

berkorelasi dengan kelangsungan hidup yang lebih pendek (Said *et al*, 2014).

Sampai saat ini, telah teridentifikasi kurang lebih 28 jenis MMP, salah satunya adalah MMP 2 yang berfungsi memecah kolagen tipe IV. Peningkatan MMP 2 telah terbukti sebagai faktor prognostik independen pada kanker kolorektal (Kahari *et al*, 2002).



Gambar 2.3 Mekanisme Kerja MMP 2. Untuk mengaktifkan MMP 2, Pro MMP 2 perlu diubah menjadi activated MMP 2 dengan cara menempel pada reseptor MT1-MMP. Akibat dari teraktivasinya MMP2 menyebabkan degradasi dari ECM (*Extracellular Membran*) dan menghasilkan *Pro Tumorigenic ECM signalling*. Signal inilah yang menyebabkan Invasi, metastasis dan angiogenesis dari sel kanker (Sumber : Cheng Z *et al*, 2017).

2.3 MMP 2 Inhibitor

Gelatinase MMP-2 (gelatinase A) memainkan peran penting dalam sejumlah proses fisiologis seperti perbaikan jaringan dan fibrosis. Banyak penelitian yang menunjukkan keterlibatan mereka dalam serangkaian kejadian patologis, seperti artritis, sklerosis multipel, penyakit

kardiovaskular, proses inflamasi, dan perkembangan tumor melalui degradasi matriks ekstraselur. *Hydroxamid acid Inhibitor* (SC-74020) dengan *common ligand name* I52 merupakan inhibitor standar dari MMP 2. SC-74020 memiliki identifikasi, desain dan sintesis inhibitor gelatinase baru dengan sifat seperti obat yang sesuai dan profil yang baik dalam hal afinitas dan selektivitas. Menggunakan pendekatan *in silico*, serangkaian turunan 4-thiazolydinyl-N-hydroxycarboxamide (SC-74020) berhasil diidentifikasi. Pada berbagai penelitian telah dibuktikan bahwa SC-74020 menunjukkan aktivitas penghambatan yang kuat terhadap gelatinase A dan selektivitas yang baik dibandingkan MMP lain yang. Senyawa yang teridentifikasi dapat menjadi potensial baru agen terapeutik (National Center for Biotechnology Information, 2004).

Salah satu mekanisme kerja *Hydroxamid acid Inhibitor* adalah *endogenous-like inhibitors*. *Endogenous inhibitors* pada MMP 2 adalah Tissue Inhibitor of Metalloproteinase 2 atau TIMP 2. TIMP berperan dalam inhibisi Metalloproteinase (MMP). Keseimbangan antara TIMP dan MMP berperan penting dalam *remodelling ECM (Extracellular Matrix)*. Degradasi pada ECM penting dalam proses perkembangan, *morphogenesis, tissue repair* dan *remodelling*. Namun, apabila terjadi disregulasi maka akan menjadi penyebab dari berbagai macam disease, salah satunya adalah kanker (Hideaki et al, 2006).

2.4 *Pleurotus Ostreatus*

Jamur dianggap sebagai sumber nutrisi dan secara farmakologis senyawa aktif pada Jaur penting dan bermanfaat dalam pengobatan.

Penggunaan jamur yang *edible* untuk dikonsumsi manusia dibutuhkan untuk memenuhi kebutuhan nutrisi dan hingga sekarang ini banyak digunakan sebagai makanan sehari-hari oleh sebagian masyarakat. Pentingnya nutrisi pada Jamur dikarenakan nilai gizi jamur yang bermutu tinggi dan diperkirakan hampir sama dengan susu. Jamur memiliki rasa yang unik, rasa yang hampir seperti daging dan mempunyai nilai untuk kesehatan. Tumbuhan ini memiliki kalori yang rendah setiap 100 gram mempunyai 28 K/Cal, rendah sodium, lemak dan asam lemak esensial serta tinggi protein nabati, vitamin dan mineral (Dipan, 2018).

Morfologi dari jamur tiram yaitu tumbuhan ini memiliki badan buah yang tumbuh mekar dan berbentuk seperti kerang atau tiram. Jamur tiram dibudidayakan pada batang kayu lapuk dan tersusun berderet menyamping. Jamur tiram memiliki pileus yaitu tudung dan stripe atau stalk yaitu tangkai. Ukuran tumbuhan ini yaitu 5 cm- 15 cm serta memiliki tekstur menyerupai insang yang berlapis. Tangkai Jamur tiram berukuran 2cm – 6cm menyesuaikan dengan iklim serta lingkungan (Djarjah dan Abbas, 2011). Tumbuhan ini hidup secara saprofitik dikarenakan tidak memiliki klorofil untuk membuat makanan sendiri. Saprofitik yaitu jamur tiram yang hidup dan makan serta mendapat nutrisi dari bahan organik yang sudah mati (Suriawiria, 2011). Adapun klasifikasi dari jamur tiram sebagai berikut :

Super Kingdom : Eukaryota
Kingdom : Myceteae (Fungi)
Divisio : Amastigomycota Sub
Divisio : Basidiomycotae
Kelas : Basidiomycetes

Ordo : Agaricales
Familia : Agaricaceae
Genus : *Pleurotus*
Spesies : *Pleurotus spp.* (Djarjah, 2001).



Gambar 2.4 *Pleurotus ostreatus* (Sumber : Islami A et al, 2013)

Tabel 2.4 Kandungan Gizi Jamur Tiram Menurut Sumarsih, 2015.

Komposisi	Jumlah
Protein	15,7 %
Lemak	2,66%
Karbohidrat	6,41%
Serat	39,8%
Abu	7,04 %
Kalori	28 K/Cal

Jamur dari genus *Pleurotus* memiliki khasiat obat seperti modulasi sistem kekebalan tubuh, aktivitas hipoglikemik dan antitrombotik, kemampuan untuk menurunkan tekanan darah dan konsentrasi kolesterol, serta aktivitas anti-inflamasi, antimikroba dan antitumoral (Zhan et al, 2011). Studi in vitro dan in vivo menunjukkan sifat antitumoral ekstrak dari *fruit bodies* (Dalonso et al,

2010), *mycelial biomass* (Jeong et al, 2010) dan dari *culture broth* (De Barba et al, 2011) jamur dari *Pleurotus ostreatus*. Serta, pada penelitian secara in vitro menunjukkan bahwa ekstrak *pleurotus ostreatus* pada sel Caco-2 manusia mampu mengurangi sekresi MMP-2 dan menghambat invasi sel Caco-2 (sel kanker kolorektal) melalui membrana basal (Cojocar, 2013).

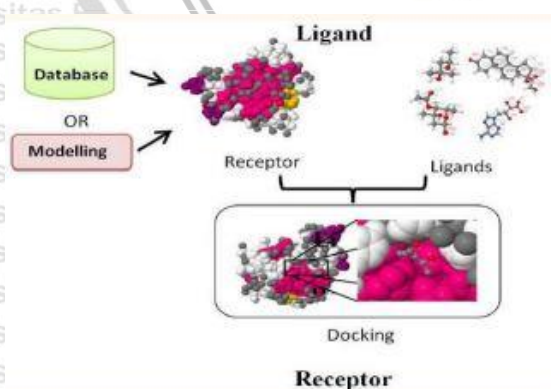
Pleurotus ostreatus memiliki senyawa bioaktif seperti *Dehydroergosterol*, *ergosterol*, *Ergosta-7,22-dienol*, *Catechin*, *Quercetin*, *Chrysin*, dan *1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)* yang terkait dengan mekanisme aksi anti kanker. Kemungkinan mekanisme kerja zat ini terjadi melalui penghambatan degradasi *extracellular matrix* (ECM), penghambatan neovaskularisasi atau angiogenesis, serta pencegahan invasi sel kanker dan metastasis (Mohammed dan Farghaly, 2014) (Dipan, 2018).

2.5 Studi *In Silico*

Penelitian *in silico* dilakukan dengan menggunakan simulasi komputer atau uji secara komputasi. *In silico* digunakan sebagai penelitian awal dalam menemukan senyawa obat baru dan meningkatkan efisiensi pada optimasi senyawa induk sehingga diperoleh senyawa yang lebih poten. Keuntungan pada metode ini adalah dapat digunakan dalam memprediksi, memberikan hipotesa dan menjadi suatu penemuan baru dalam suatu pengobatan maupun terapi (Hardjono, 2013). Salah satu contoh dari penelitian *in silico* adalah *molecular docking* yang merupakan suatu metode dalam pembuatan tambatan antara senyawa aktif yang dipilih sebagai kandidat ligan dengan molekul protein target yang dipilih sebagai reseptor (Jensen, 2007). Harapan dari molecular docking adalah senyawa aktif ligan dapat membentuk ikatan pada posisi yang

sama dengan ligan kontrol dengan begitu dapat dilakukan penilaian *binding affinity* untuk mengetahui potensi ikatan ligan pada protein target (Chaudhary dan Mishra, 2016).

Orientasi favorit untuk memprediksi *binding affinity* atau afinitas pengikatan antara ligan dan protein adalah dengan memanfaatkan fungsi penilaian. Docking sering diterapkan untuk mengantisipasi penyesuaian pengikatan calon obat terhadap target protein untuk memprediksi afinitas dan aktivitas obat. Oleh karena itu, docking memainkan peran penting dalam desain dan proses penemuan obat. Tujuan utama dari *molecular docking* adalah untuk mensimulasikan proses identifikasi *molecular* secara komputasi dan mencapai konformasi yang optimal sehingga energi bebas dari keseluruhan sistem dapat diminimalkan. Proses penemuan obat baru merupakan hal yang tidak mudah. Sekarang ini penemuan obat modern terutama didasarkan pada *In-silico-chemico biological approach*. Penggunaan teknik komputasi pada penemuan dan proses pengembangan obat menjadi sangat populer, implemetatif dan apresiatif (Kitchen, 2004).



Gambar 2.5 Molecular docking. Molecular docking bertujuan memberikan prediksi struktur kompleks ligan-reseptor menggunakan metode komputasi (Chaudhary dan Mishra, 2016).

Pada dasarnya, tujuan *molecular docking* adalah untuk memberikan prediksi struktur kompleks ligan-reseptor menggunakan metode komputasi. Docking bisa dilakukan melalui dua langkah yang saling berkaitan, pertama dengan mengambil sampel konformasi ligan pada sisi aktif protein, kemudian melakukan pemeringkatan konformasi melalui fungsi penilaian. Idealnya, algoritma pengambilan sampel harus menghasilkan jumlah konfigurasi yang optimal yang dapat diterima dengan penentuan metode eksperimen mode pengikatan atau *binding mode* dan fungsi penilaian dapat dilakukan dengan pemeringkatan sehingga dapat dicari yang tertinggi dari semua konformasi yang dihasilkan (Meng et al, 2011).

Fungsi penilaian bertujuan untuk menentukan posisi dari ligan satu dengan ligan lain. Idealnya, penilaian harus berhubungan langsung dengan *binding affinity* ligan dan protein, sehingga ligan dengan skor terbaik memiliki ikatan terbaik. Fungsi penilaian bisa empiris, berbasis pengetahuan, atau berbasis mekanika molekuler. Penilaian sebenarnya terdiri dari tiga jenis hal berbeda yang berlaku untuk desain docking dan obat. Yang pertama adalah peringkat konfigurasi yang dihasilkan oleh penelitian docking, kedua adalah peringkat pada ligan-ligan yang berbeda terhadap protein (*virtual screening*) dan ketiga adalah peringkat ligan terhadap protein-protein yang berbeda berdasarkan *binding affinity* mereka (*selectivity and specificity*) (Chaudhary dan Mishra, 2016).

Hasil akhir yang didapat dari penelitian docking adalah suatu afinitas ikatan dari kompleks molekul. Nilai negatif mengindikasikan ikatan pada kompleks molekul. Apabila semakin rendah / negatif pada nilai afinitas ikatan menggambarkan bahwa ikatan stabil dan mudah untuk dibentuk. Namun,

apabila nilai energi lebih besar menunjukkan bahwa kompleks yang terbentuk kurang stabil. Suatu afinitas ikatan dapat dikatakan stabil apabila nilai afinitas lebih rendah daripada ligan kontrol, sehingga menunjukkan hasil yang lebih baik (Yunta, 2016).

Pada prinsipnya hal pertama yang dilakukan dalam penemuan obat melalui molecular docking adalah menentukan protein target diikuti dengan mencari struktur tiga dimensi molekul tersebut pada database *Protein Data Bank* (PDB) dan selanjutnya menentukan sisi pengikatan pada protein target. Lalu pada tahap kedua tentukan ligan dan cari struktur tiga dimensi pada database dengan tujuan mengetahui interaksinya dengan protein target. Pada tahap selanjutnya lakukan preparasi molekul protein target dan ligan menggunakan software Chimera. Setelah itu docking bisa dilakukan menggunakan software docking. Hasil docking tersebut adalah kompleks ligan dan protein target serta nilai binding affinity. Pada tahap terakhir dapat dilakukan analisis hasil docking menggunakan Chimera untuk visualisasi dan LigPlot untuk mengetahui asam amino yang terlibat pada dua interaksi utama pada kestabilan ikatan, yaitu interaksi hidrofobik dan hidrogen (Chaudhary dan Mishra, 2016).

2.5.1 Prediksi Sifat Farmakologi Secara *In Silico*.

Pemfokusan pada analisis senyawa dalam hal karakteristik ADME-Tox, yaitu *Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion dan Toxicology* suatu obat banyak dilakukan pada penelitian *in silico*. Kemiripan senyawa terhadap obat oral merupakan fokus dari *Drug Likeness*. *Drug Likeness* penting dilakukan sebelum suatu senyawa dapat diuji sebagai suatu obat. *Lipinski's Rule of Five* merupakan metode untuk mengevaluasi *Drug*

Likeness. Kriteria tersebut adalah berat molekul kurang dari 500 g/mol, memiliki lipofilisitas tinggi (Log P kurang dari 5), donor ikatan hidrogen kurang dari 5, akseptor ikatan hidrogen kurang dari 10 dan Molar Refractory berkisar antara 40-130 (Wulandari, 2010).

Nilai massa yang melebihi kriteria menyebabkan senyawa gagal melakukan difusi untuk menembus membran sel. Sedangkan untuk nilai log P mengindikasikan toksisitas yang tinggi jika senyawa memiliki nilai yang melebihi dari kriteria. Hal ini disebabkan senyawa akan bertahan lebih lama di *lipid bilayer* dan terjadi distribusi yang lebih luas di dalam tubuh yang akhirnya dapat menyebabkan berkurangnya selektifitas ikatan pada enzim target. Di sisi lain nilai log P yang terlalu rendah juga tidak baik karena dapat menyebabkan senyawa gagal untuk menembus *lipid bilayer*. Selanjutnya, kriteria untuk jumlah donor ikatan hidrogen yaitu kurang dari 5 dan akseptor ikatan hidrogen yaitu kurang dari 10. Hal ini dikarenakan apabila semakin tinggi nilai dari kapasitas ikatan hidrogen maka energi untuk absorbs juga akan semakin tinggi (Syahputra dkk., 2011). Sifat kimia-fisika seperti, keasaman, kelarutan air, titik lebur, titik didih dan kemampuan dalam pembentukan kelat, yaitu pengikatan suatu atom dengan suatu ligan pada dua atau lebih lokasi ikatan dapat dipengaruhi oleh ikatan hidrogen. Perubahan tersebut berpengaruh pada aktivitas biologis. Kriteria terakhir yaitu *Molar Refractory* dengan nilai antara 40-130, nilai tersebut menunjukkan total polarisabilitas molekul obat yang bergantung tinggi pada tekanan, indeks bias dan suhu (Widianti, 2013).

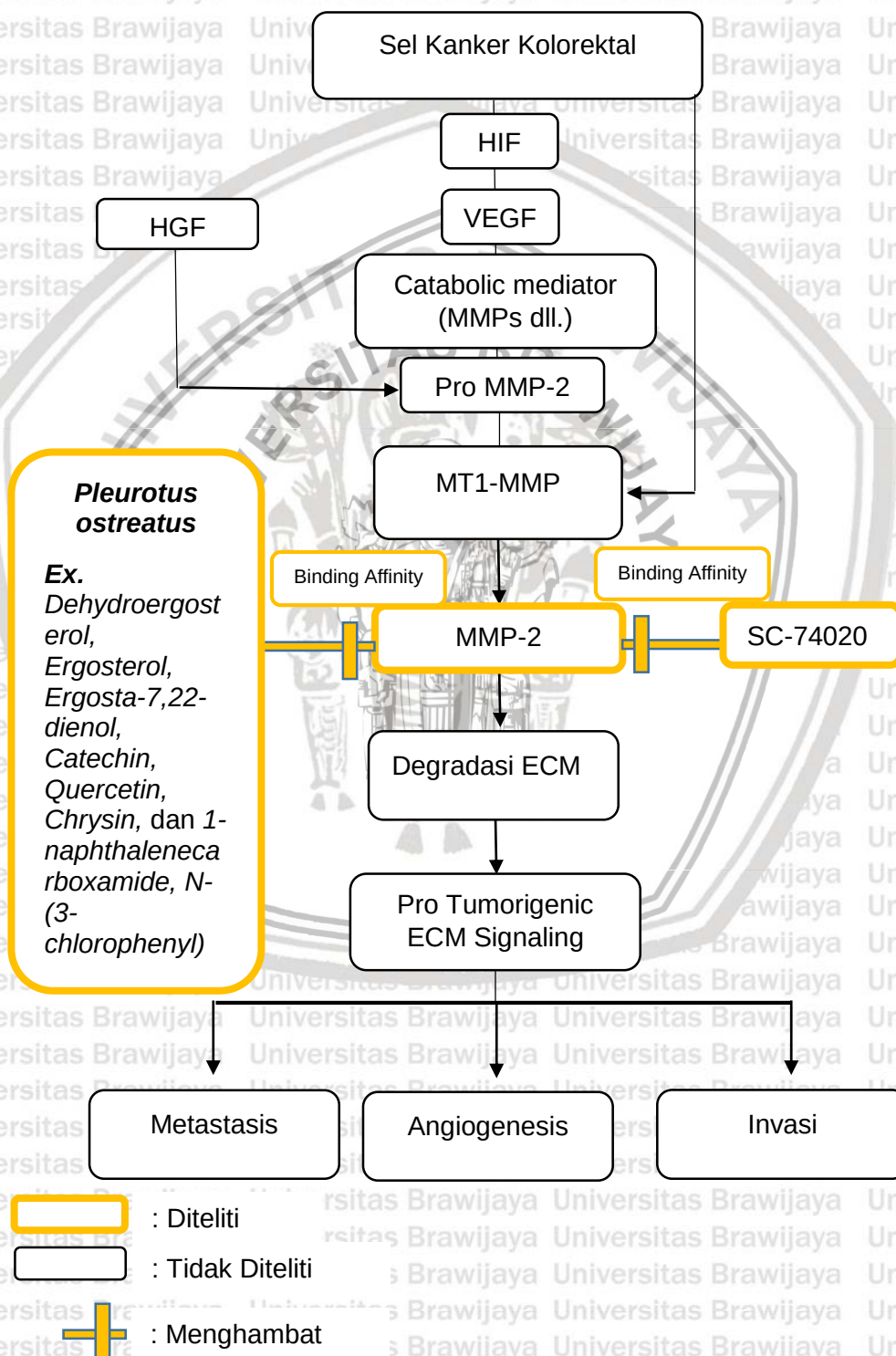
Bioavailibilitas oral dengan nilai yang tinggi merupakan pertimbangan yang penting untuk mengembangkan suatu molekul bioaktif sebagai suatu

terapi. Terdapat dua aturan skrining bioavailabilitas oral yaitu, Veber's rule (Veber *et al.*, 2002) dan Egan's Rule (Egan *et al.*, 2000). Kriteria dari Veber's rule adalah Rotatable bonds (*n*rotb) kurang dari atau sama dengan 10, tPSA (Topological Polar Surface Area) kurang dari atau sama dengan 140 Å dan Total H-bonds (*n*OHNH) + H-acceptor (*n*ON) kurang dari atau sama dengan 12. Sedangkan untuk Egan's Rule adalah nilai tPSA berada pada rentang lebih besar atau sama dengan 0 dan lebih kecil atau sama dengan 132 Å sedangkan nilai logP berada pada rentang lebih besar atau sama dengan -1 dan kurang dari atau sama dengan 6 (Wulandari, 2010).

YASARA adalah program molekul grafis, modeling dan simulasi struktur tiga dimensi yang berisi analisis protein dan asam nukleat. Plugin FoldX untuk YASARA adalah paket perangkat lunak untuk mengakses dan menjalankan perintah FoldX di YASARA. FoldX adalah program perangkat lunak pemodelan molekul dan desain protein yang menghitung perbedaan energi yang mendekati nilai eksperimen. FoldX dapat meminimalkan struktur Protein Data Bank (PDB), mengubah satu atau lebih residu menjadi residu baru, melakukan analisis stabilitas protein, analisis energi interaksi protein-protein dan lain-lain. FoldX banyak digunakan untuk memprediksi efek mutasi pada stabilitas protein atau untuk memprediksi efek pada ikatan protein-protein. YASARA dan plugin FoldX tersedia untuk Linux, MacOSX dan Windows (Slack, 2008).

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Uraian Kerangka Konsep

Patogenesis kanker kolon dihasilkan dari proses kompleks bertahap yang berkembang dari transformasi *neoplastic* sel normal, *invasi jaringan*, *intra* dan *ekstravasasi vascular* (migrasi sel kanker), dan akhirnya berkembang di organ lain.

Proliferasi yang cepat menyebabkan keadaan hipoksia karena difusi oksigen yang terbatas akibat pertumbuhan jaringan. Untuk mendapatkan suplai nutrisi dan oksigen yang adekuat pada tumor yang berukuran lebih dari 2-3 mm³ diperlukan pembuluh darah baru. Hipoksia merupakan stimulus penting pada angiogenesis tumor yang berakibat stabilisasi HIF-1a. Ekspresi HIF-1a akan meningkat dan membentuk dimer dengan HIF-1b, kemudian kompleks ini berikatan dengan DNA, merekrut ko-aktivator lalu mentranskripsi gen sasaran. Gen sasaran HIF-1 akan menyandi faktor pertumbuhan pro angiogenik seperti VEGF. VEGF menghasilkan catabolic mediator, salah satunya yaitu meningkatkan produksi dari Pro MMP. Di sisi lain Pro MMP juga dihasilkan oleh HGF. Salah satu MMP yang terdapat pada kanker kolorektal adalah MMP 2. Untuk mengaktifkan MMP 2, Pro MMP 2 perlu diubah menjadi activated MMP 2 dengan cara menempel pada reseptor MT1-MMP. Akibat dari teraktivasinya MMP2 menyebabkan degradasi dari ECM dan menghasilkan *Pro Tumorigenic ECM signalling*. Signal inilah yang menyebabkan *Invasi*, *metastasis* dan *angiogenesis* dari sel kanker. Namun MMP 2 dapat diinhibisi menggunakan *standard inhibitor* ligand dari MMP 2, yaitu SC-74020.

Diharapkan molekul senyawa aktif jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) *Dehydroergosterol*, *Ergosterol*, *Ergosta-7,22-dienol*, *Catechin*, *Quercetin*, *Chrysin*, dan *1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)* dapat bekerja sebagai penghambat MMP2. Oleh karena itu, senyawa aktif Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*) pada penelitian ini diprediksi memiliki interaksi dengan MMP

2 yang akan diketahui melalui pengikatan molekul senyawa aktif jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) dengan MMP2 secara *in silico* dengan tujuan didapatkannya nilai binding affinity. Kemudian, dilakukan perbandingan antara kompleks ini dengan standard inhibitor ligan SC-74020 dengan MMP 2. Apabila nilai binding affinity menunjukkan MMP 2 dapat berikatan stabil dan lebih mudah dengan senyawa aktif jamur tiram pada daerah yang sama dengan SC-74020, harapannya senyawa aktif jamur tiram berpotensi menghambat terjadinya aktivasi MMP 2 sehingga sinyal invasi, metastasis dan angiogenesis dapat berhenti.

3.2 Hipotesis Penelitian

1. Terdapat senyawa aktif dari jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) yang dapat berikatan dengan MMP 2 pada sel kanker kolorektal.
2. Senyawa aktif jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) berpotensi sebagai agen terapi kanker kolorektal per oral melalui ikatan dengan MMP 2 secara *in silico*.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental sekunder dengan mengambil sampel dari *database* PDB (*Protein Data Bank*) dan PubChem, yang bertujuan untuk mengetahui afinitas ikatan senyawa aktif jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) dengan reseptor MMP2 secara *in silico* yang diharapkan dapat menjadi agen terapi pada kanker kolorektal.

4.2 Populasi dan Sampel Penelitian

4.2.1 Populasi

Populasi penelitian ini adalah struktur molekul reseptor MMP 2 yang datanya didapatkan dari *database* PDB.

4.2.2 Sampel

Sampel penelitian ini adalah struktur molekul senyawa aktif jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) yakni *Dehydroergosterol*, *Ergosterol*, *Ergosta-7,22-dienol*, *Catechin*, *Quercetin*, *Chrysin*, dan *1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)* yang datanya didapatkan dari *database* PubChem dan SC-74020 sebagai ligan kontrol standar, yang datannya didapatkan dari *database* PDB.

4.3 Tempat dan Waktu Penelitian

4.3.1 Tempat Penelitian

Penelitian ini berlangsung di Laboratorium Bioinformatika, Institut Bioinformatika Indonesia, Malang.

4.3.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2021 hingga September 2021.

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah jenis ligan dan target yang digunakan, yaitu senyawa aktif jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) *Dehydroergosterol*, *Ergosterol*, *Ergosta-7,22-dienol*, *Catechin*, *Quercetin*, *Chrysin*, dan *1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)* dan SC-74020 sebagai ligan, serta reseptor MMP 2 sebagai target.

4.4.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah afinitas ikatan senyawa aktif jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) *Dehydroergosterol*, *Ergosterol*, *Ergosta-7,22-dienol*, *Catechin*, *Quercetin*, *Chrysin*, dan *1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)* dengan reseptor MMP 2 dan SC-74020 dengan reseptor MMP 2.

4.5 Definisi Operasional

- *Dehydroergosterol* adalah senyawa aktif *Pleurotus ostretus* ergostane steroids yang bekerja sebagai anti kanker didapatkan dari PubChem (Mohammed dan Farghaly, 2014).
- *Ergosterol* adalah senyawa *Pleurotus ostretus* ergostane steroids yang bekerja sebagai anti kanker didapatkan dari PubChem (Dipan, 2018).
- *Ergosta-7,22-dienol* adalah senyawa *Pleurotus ostretus* ergostane steroids yang bekerja sebagai anti kanker didapatkan dari PubChem (Dipan, 2018).
- *Catechin* adalah senyawa aktif *Pleurotus ostretus* subclass flavans yang bekerja sebagai anti kanker didapatkan dari PubChem (Mohammed dan Farghaly, 2014).
- *Quercetin* adalah senyawa aktif *Pleurotus ostretus* subclass flavones yang bekerja sebagai anti kanker didapatkan dari PubChem (Mohammed dan Farghaly, 2014).
- *Chrysin* adalah senyawa aktif *Pleurotus ostretus* subclass flavones yang bekerja sebagai anti kanker didapatkan dari PubChem (Mohammed dan Farghaly, 2014).
- *1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)* adalah senyawa aktif *Pleurotus ostretus* class naphtalenes yang bekerja sebagai anti kanker didapatkan dari PubChem (Mohammed dan Farghaly, 2014).
- MMP2 adalah resptor yang yang apabila terjadi disregulasi menyebabkan invasi, metastasis dan angiogenesis pada kanker kolorektal (Hideaki et al, 2006).

- SC-74020 adalah ligan standar *inhibitor* yang bekerja pada reseptor MMP2 (National Center for Biotechnology Information, 2004).
- Molecular docking adalah metode komputasi yang dilakukan untuk mengetahui interaksi pada kompleks molekul dan mendapatkan nilai binding affinity atau afinitas ikatan (Mukesh dan Rakesh, 2011).
- Afinitas ikatan adalah kekuatan energi interaksi antara molekul ligan dengan molekul target. Energi yang lebih rendah (negatif) menunjukkan ikatan yang stabil dan lebih mudah terbentuk (Yunta, 2016).
- *Prediction of Activity Spectra for Active Substances* merupakan metode untuk memprediksi aktivitas biologis dari suatu senyawa secara komputasi berbasis *website* yang dapat diakses melalui link <http://www.way2drug.com/PASSOnline> (Jamkhande dkk, 2014).
- *Lipinski's Rule of Five* merupakan metode untuk mengevaluasi *Drug Likeness*. Kriteria tersebut adalah berat molekul kurang dari 500 g/mol, memiliki lipofilisitas tinggi (Log P kurang dari 5), donor ikatan hidrogen kurang dari 5, akseptor ikatan hidrogen kurang dari 10 dan Molar Refractivity berkisar antara 40-130 (Wulandari, 2010).
- Bioavailabilitas oral dengan nilai yang tinggi merupakan pertimbangan yang penting untuk mengembangkan suatu molekul bioaktif sebagai suatu terapi. Terdapat dua aturan skrining bioavailabilitas oral yaitu, Veber's rule (Veber *et al.*, 2002) dan Egan's Rule (Egan *et al.*, 2000).
- Kanker kolorektal adalah pertumbuhan yang tidak normal dan terjadi pada sel kolon maupun rectum serta dapat terjadi metastasis (penyebaran pada organ lain). (Black and Hawks, 2006).

4.6 Alat dan Bahan Penelitian

4.6.1 Alat

- a. Perangkat keras berupa satu set laptop dengan spesifikasi: Processor tipe Intel® Core™ i5-7200U, RAM 4GB, kapasitas hard drive 1000 GB HDD
- b. *Prediction of Activity Spectra for Active Substances* untuk memprediksi aktivitas biologis dari suatu senyawa.
- c. *SwissTarget Prediction* / SEA LAB untuk mengetahui apakah senyawa aktif dari ekstrak jamur tiram dapat berikatan langsung dengan MMP 2 atau protein lain yang masih memiliki hubungan ekspresi dengan MMP 2.
- d. Perangkat lunak PyMOL untuk visualisasi 3 dimensi Senyawa aktif jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) dan visualisasi ikatan kompleks ligan dengan reseptor.
- e. UCSF Chimera 1.15 untuk visualisai, preparasi reseptor MMP 2 dan preparasi ligan SC-74020.
- f. PyRx untuk melakukan docking Senyawa aktif jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) *Dehydroergosterol*, *Ergosterol*, *Ergosta-7,22-dienol*, *Catechin*, *Quercetin*, *Chrysin*, dan *1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)* maupun SC-74020 dengan MMP2 sehingga didapatkan afinitas ikatan dan kompleks molekul, dan LigPlot v.1.4.5 untuk menganalisis letak ikatan pada kompleks.

g. Lipinski's filter untuk membedakan molekul *drug like* dan *non drug like*.

h. Molinspiration untuk mengetahui nilai bioavailabilitas oral dari senyawa aktif.

4.6.2 Bahan Docking senyawa aktif jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) – reseptor MMP 2 dan SC-74020 – reseptor MMP 2

a. Struktur tiga dimensi MMP2 dan SC-74020

(<https://www.rcsb.org/structure/1hov>).

b. Struktur tiga dimensi senyawa aktif jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*)

- *Dehydroergosterol*

(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dehydroergosterol>)

- *Ergosterol* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/444679>)

- *Ergosta-7,22-dienol*

(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/129679904>)

- *Catechin* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Cianidanol>)

- *Quercetin* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Quercetin>)

- *Chrysin* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Chrysin>)

- *1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)*

([https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1-](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1-Naphthalenecarboxamide-N-(3-chlorophenyl))

[Naphthalenecarboxamide -N- 3-chlorophenyl\)](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1-Naphthalenecarboxamide-N-(3-chlorophenyl))

4.7 Prosedur Penelitian (Potensi Bioaktivitas, *Binding Affinity*, Residu Asam Amino, *Drug Likeness* dan Bioavailabilitas Oral)

1. Uji *Screening* kandidat senyawa aktif jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) yang akan dipilih untuk dilakukan penelitian lebih lanjut.
2. Uji *Prediction of Activity Spectra for Active Substances* untuk memprediksi aktivitas biologis / potensi bioaktivitas dari suatu senyawa diakses melalui link <http://www.way2drug.com/PASSOnline>. Selanjutnya pada menu Predict New Compound dimasukkan SMILES senyawa aktif *Pleurotus ostreatus* pada tab menu kemudian akan didapatkan hasil potensi bioaktivitas dan dilakukan seleksi aktivitas yang berhubungan dengan anti kanker.
3. Prediksi menggunakan *SwissTarget Prediction*, metode komputasi yang dapat diakses melalui link <http://www.swisstargetprediction.ch/> atau dapat menggunakan SEA LAB melalui website <https://sea.bkslab.org/>. Metode ini untuk mengetahui apakah tiap senyawa aktif dari ekstrak jamur tiram dapat berikatan langsung dengan MMP 2 atau protein lain yang masih memiliki hubungan ekspresi dengan MMP 2. Peneliti perlu memasukkan SMILES atau struktur dua dimensi dari senyawa aktif, lalu website akan mengolah data hingga akhirnya diperoleh daftar protein-protein yang diprediksi dapat berikatan langsung dengan senyawa tersebut.

4. DOCKING

Dilakukan preparasi senyawa aktif jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*).

Struktur tiga dimensi senyawa aktif jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*)

diunduh dalam format .sdf dengan sumber sebagai berikut :

- *Dehydroergosterol*

(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dehydroergosterol>)

- *Ergosterol* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/444679>)

- *Ergosta-7,22-dienol*

(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/129679904>)

- *Catechin* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Cianidanol>)

- *Quercetin* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Quercetin>)

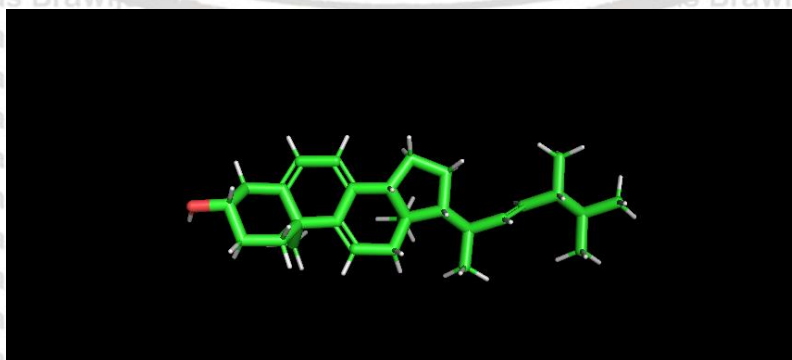
- *Chrysin* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Chrysin>)

- *1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)*

(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1-Naphthalenecarboxamide-N-3-chlorophenyl>)

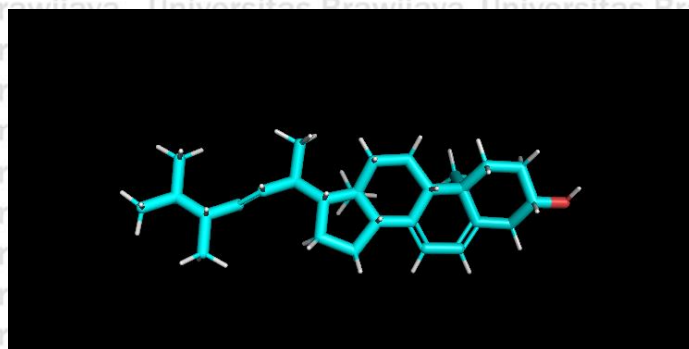
Naphthalenecarboxamide -N- 3-chlorophenyl

kemudian divisualisasikan pada aplikasi PyMOL.

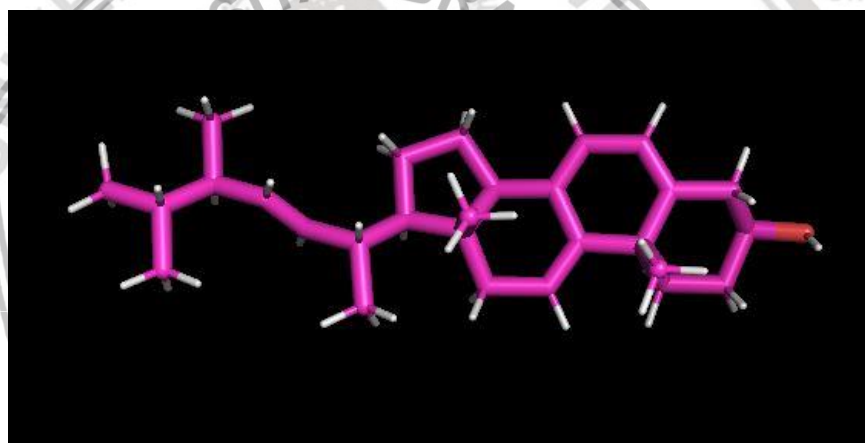


Gambar 4.1 Struktur tiga dimensi *Dehydroergosterol*

Struktur tiga dimensi ini merupakan visualisasi molekul *Dehydroergosterol* sebelum dilakukan docking.



Gambar 4.2 Struktur tiga dimensi *Ergosterol* Struktur tiga dimensi ini merupakan visualisasi molekul *Ergosterol* sebelum dilakukan docking.



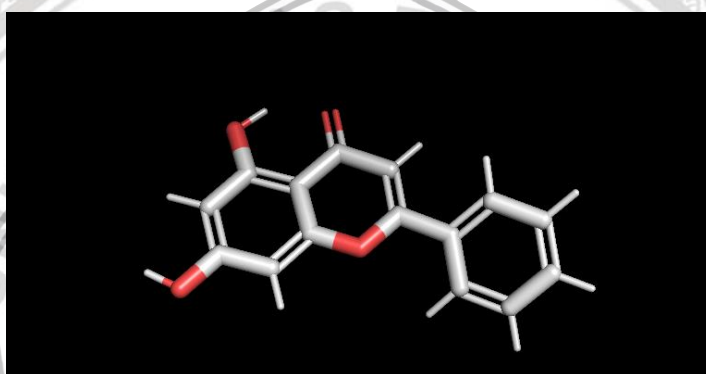
Gambar 4.3 Struktur tiga dimensi *Ergosta-7,22-dienol* Struktur tiga dimensi ini merupakan visualisasi molekul *Ergosta-7,22-dienol* sebelum dilakukan docking.



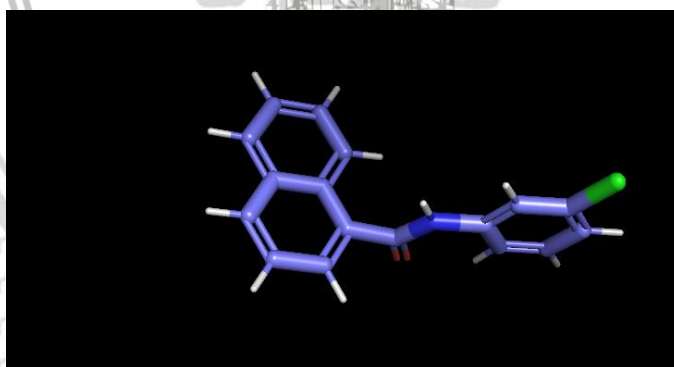
Gambar 4.4 Struktur tiga dimensi *Catechin* Struktur tiga dimensi ini merupakan visualisasi molekul *Catechin* sebelum dilakukan docking.



Gambar 4.5 Struktur tiga dimensi *Quercetin* Struktur tiga dimensi ini merupakan visualisasi molekul *Quercetin* sebelum dilakukan docking.



Gambar 4.6 Struktur tiga dimensi *Chrysin* Struktur tiga dimensi ini merupakan visualisasi molekul *Chrysin* sebelum dilakukan docking.

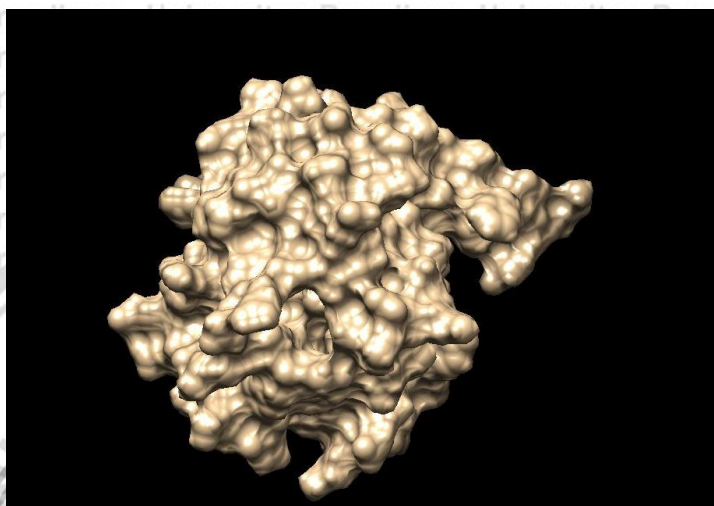


Gambar 4.7 Struktur tiga dimensi *1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)* Struktur tiga dimensi ini merupakan visualisasi molekul *1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)* sebelum dilakukan docking.

5. Preparasi MMP 2

Dilakukan pengunduhan struktur tiga dimensi MMP2 dalam format .pdb dari <https://www.rcsb.org/structure/1hov>, hasil pengunduhan

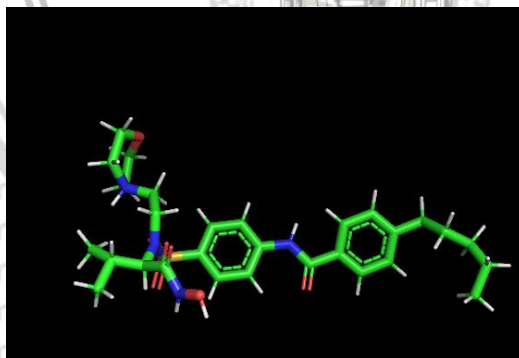
divisualisasi pada aplikasi UCSF Chimera 1.15, selanjutnya kompleks dipotong serta residu-residu yang tidak diperlukan dihapus.



Gambar 4.8 Struktur tiga dimensi MMP 2. Struktur tiga dimensi ini merupakan visualisasi protein MMP2 sebelum dilakukan docking.

6. Preparasi SC-74020 (Ligan Kontrol)

Dilakukan preparasi ligan standar hasil dari preparasi reseptor MMP 2.



Gambar 4.9 Struktur tiga dimensi SC-74020. Struktur tiga dimensi ini merupakan visualisasi protein SC-74020 sebelum dilakukan docking.

7. Struktur tiga dimensi yang telah divisualisasi disimpan dalam format .pdb

8. Aplikasi PyRx disiapkan, kemudian dipilih add macromolecules pada bagian vina wizard untuk dimasukkan struktur MMP 2.

9. Semua ligan yang akan digunakan dimasukkan pada tabel, kemudian semua senyawa tersebut dipilih sebagai ligan untuk menjadi .pdbqt.

10. Pada vina wizard tombol start ditekan untuk dimulainya docking menggunakan senyawa-senyawa yang telah dipilih sebelumnya.

11. Pada bagian molecules, tombol display dipilih diikuti dengan tombol ball and sticks kemudian molecular surface untuk diketahui letak keberadaan ligan kontrol pada 3D scene.

12. Tombol forward dipilih pada bagian kanan bawah vina wizard, setelah itu ruang reaksi dalam fitur Run Auto Grid pada 3D scene diatur sehingga ligan senyawa aktif terletak pada area yang sama dengan ligan kontrol dengan tujuan dapat dilakukannya *targeted docking*.

13. Tombol forward dipilih agar didapatkan kompleks ikatan semua ligan yang telah dipilih dengan MMP 2 beserta *binding affinity*.

14. Hasil docking PyRx disimpan dalam bentuk pdb.

15. Ikatan kompleks hasil docking divisualisasi dengan MMP2 menggunakan aplikasi PyMOL dan disimpan dalam bentuk pdb.

16. Tahap selanjutnya dilakukan **IDENTIFIKASI SISI PENGIKATAN**.

17. File pdb. dari visualisasi PyMOL diidentifikasi pada aplikasi LigPlot dengan menu file lalu open sehingga didapatkan hasil ikatan hidrogen dan hidrofobik.

18. Hasil tersebut kemudian didata untuk dianalisis perbandingan pada ikatan senyawa aktif *Pleurotus ostreatus* dengan MMP 2 dan ligan kontrol dengan MMP 2.

19. Tahap selanjutnya dilakukan **screening DRUG LIKENESS** dengan Lipinski's filter menggunakan web www.scfbioiitd.re.in.

20. Tab menu *Lipinski Rule of Five* dipilih, kemudian file PDB senyawa aktif *Pleurotus ostreatus* dimasukkan pada web menggunakan tombol 'submit'.

21. Didapatkan hasil analisa berupa berat molekul, lipofilisitas, donor dan akseptor ikatan hidrogen serta *Molar Refractivity*.

22. Hasil tersebut dianalisis sifat kemiripannya dengan obat (*Drug Likeness*) sesuai kriteria *Lipinski's filter*.

23. Tahap selanjutnya dilakukan **screening tingkat BIOAVAILIBILITAS ORAL** berdasarkan *Veber's rules* dan *Egan's rules* menggunakan Molinspiration.

24. Pada web www.molinspiration.com dipilih menu *Calculation of Molecular Properties and Prediction of Bioactivity*.

25. Kemudian SMILES *Pleurotus ostreatus* dapat dimasukkan pada tabel.

26. *Calculate Properties* dipilih dan akan muncul hasil analisa berupa *H bond acceptor* dan *H bond donor*, *tPSA*, *rotatable bond* dan *logP*.

27. Hasil tersebut kemudian dapat dianalisa sesuai kriteria bioavailabilitas oral.

4.8 Analisis Data

Hasil dari penelitian docking adalah suatu afinitas ikatan dari kompleks molekul. Apabila semakin rendah atau negatif pada nilai afinitas ikatan, maka ikatan tersebut stabil dan mudah untuk dibentuk. Suatu afinitas ikatan dapat dikatakan stabil apabila nilai afinitas lebih rendah daripada ligan kontrol (Yunta, 2016). Sedangkan hasil screening residu asam amino menunjukkan kemiripan aktivitas dan jenis interaksi dari ligan uji dan ligan kontrol. Hal ini ditandai dengan kemiripan hasil ikatan residu asam amino yang mendekati ligan kontrol sebagai ligan pembanding (Pratama, 2016). Selanjutnya, untuk hasil *drug likeness* berdasarkan kriteria Lipinski's Rule, dimana berat molekul kurang dari 500 g/mol, memiliki lipofilisitas tinggi (Log P kurang dari 5), donor ikatan hidrogen kurang dari 5, akseptor ikatan hidrogen kurang dari 10 dan Molar Refractory berkisar antara 40-130. Apabila ligan uji memenuhi dua atau lebih kriteria maka senyawa tersebut memiliki kemiripan dengan obat (Wulandari, 2010). Untuk Bioavailabilitas oral didasarkan pada kriteria dari Veber's rule dan Egan's Rule. Kriteria Veber's rule yaitu rotatable bonds (nrotb) kurang dari atau sama dengan 10, tPSA (Topological Polar Surface Area) kurang dari atau sama dengan 140 Å dan Total H-bonds (nOHNH) + H-acceptor (nON) kurang dari atau sama dengan 12. Sedangkan untuk Egan's Rule adalah nilai tPSA berada pada rentang lebih besar atau sama dengan 0 dan lebih kecil atau sama dengan 132 Å sedangkan nilai logP berada pada rentang lebih besar atau sama dengan -1 dan kurang dari atau sama dengan 6. Apabila ligan uji memenuhi semua syarat tersebut maka menunjukkan ligan uji memiliki penyerapan oral secara baik (Wulandari, 2010).

4.9 Alur Penelitian

Pengajuan proposal, pendaftaran penelitian, persiapan alat dan bahan (Preparasi senyawa aktif *Pleurotus ostreatus*, preparasi MMP2 sebagai reseptor dan preparasi SC-74020 sebagai ligan standar).

Uji PASS untuk memprediksi potensi bioaktivitas dari suatu senyawa dan uji PPI menggunakan *Swiss Target Prediction* / SEA LAB.

Melakukan docking *Dehydroergosterol*, *Ergosterol*, *Ergosta-7,22-dienol*, *Catechin*, *Quercetin*, *Chrysin*, dan *1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)* dengan MMP2 untuk mendapatkan nilai binding affinity.

Melakukan docking SC-74020 (Ligan standar) dengan MMP2 untuk mendapatkan nilai binding affinity yang selanjutnya dibandingkan dengan ketujuh senyawa aktif *Pleurotus ostreatus*.

Mendapatkan interaksi residu asam amino yang terlibat pada interaksi kedua molekul dengan LigPlot.

Screening *drug likeness* menggunakan Lipinski's filter.

Screening tingkat bioavailabilitas oral berdasarkan *Veber's rules* dan *Egan's*

Analisa hasil data penelitian dan menyusun hasil penelitian.

BAB 5

HASIL PENELITIAN

5.1 Hasil Docking Senyawa Aktif Ekstrak Jamur Tiram terhadap MMP 2

5.1.1 Senyawa Aktif Jamur Tiram yang Digunakan dalam *Molecular Docking*

Melalui studi literatur, didapatkan 40 senyawa aktif jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) yang selanjutnya dilakukan *screening* kandidat yang akan dipilih untuk dilakukan penelitian lebih lanjut. Hasil docking 40 senyawa aktif *Pleurotus ostreatus* dapat dilihat pada Lampiran 18. Pada hasil didapatkan 7 senyawa yang memiliki nilai afinitas lebih rendah dibandingkan dengan ligan kontrol SC-74020 yaitu *Dehydroergosterol*, *Ergosterol*, *Ergosta-7,22-dienol*, *Catechin*, *Quercetin*, *Chrysin* dan *1-naphtalenecarboxamide*.

Selanjutnya dilakukan uji PASS untuk memprediksi aktivitas biologis dari suatu senyawa. PASS merupakan metode komputasi berbasis *website* yang dapat diakses melalui link <http://www.way2drug.com/PASSOnline>. Dengan PASS, aktivitas biologis atau potensi bioaktivitas senyawa aktif dapat diketahui secara kuantitatif. Hasil PASS menunjukkan sejumlah aktivitas biologi kemungkinan aktif Pa (*probable activity*) dan kemungkinan tidak aktif Nilai Pi (*probable inactivity*). Semakin besar Pa, semakin tinggi potensi bioaktivitas. Berdasarkan prediksi uji PASS, senyawa aktif jamur tiram yang memiliki nilai rata-rata Pa bioaktivitas antikanker diurutkan dari yang paling tinggi ke rendah adalah *Quercetin*, *Catechin*, *Chrysin*, *Ergosterol*, *Dehydroergosterol*, *Ergosta-7,22-dienol*, dan *1-naphtalenecarboxamide*. Hasil dapat dilihat pada Tabel 5.1 dan dijelaskan lebih rinci pada Lampiran 23.

Tabel 5.1 Prediksi Bioaktivitas Senyawa Aktif Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*)

Nilai Prediksi Aktivitas PASS (Pa)	Dehydroergosterol	Ergosterol	Ergosta-7,22-dienol	Catechin	Quercetin	Chrysin	1-naphthalenecarboxamide,
JAK2 expression inhibitor	0,47	0,508	0	0,785	0,785	0,795	0,506
MMP inhibitor	0	0,233	0	0,722	0,734	0,766	0,277
Nilai rata-rata Pa	0,3933	0,5025	0,3488	0,7556	0,794	0,7538	0,2056

Sebelum melanjutkan ke tahap *molecular docking*, perlu dipastikan terlebih dahulu apakah tiap senyawa aktif dari ekstrak jamur tiram dapat berikatan langsung dengan MMP 2 atau protein lain yang masih ada hubungan ekspresi dengan MMP 2. Prediksi dapat dilakukan menggunakan *SwissTarget Prediction*, metode komputasi yang dapat diakses melalui link <http://www.swisstargetprediction.ch/> atau dapat menggunakan SEA LAB melalui website <https://sea.bkslab.org/>. Peneliti perlu memasukkan SMILES atau struktur dua dimensi dari senyawa aktif, lalu website akan mengolah data hingga akhirnya diperoleh daftar protein-protein yang diprediksi dapat berikatan langsung dengan senyawa tersebut. Setelah dilakukan uji *SwissTarget Prediction* atau SEA LAB pada tiap senyawa aktif jamur tiram, didapatkan *Quercetin* dan *Chrysin* mampu berikatan langsung dengan MMP2 dan senyawa *Catechin*, *Ergosterol*, *Dehydroergosterol*, *Ergosta-7,22-dienol*, dan *1-naphthalenecarboxamide* mampu berikatan dengan protein lain yang

masih ada hubungan ekspresi dengan MMP 2. Sehingga pada penelitian ini ke 7 senyawa dapat dilanjutkan untuk dilakukan *docking* dengan MMP 2. Hasil uji tiap senyawa aktif jamur tiram dengan aplikasi *SwissTarget Prediction* atau SEA LAB dapat dilihat pada Lampiran 19.

5.1.2 Hasil analisis binding affinity molekul ligan senyawa aktif *Pleurotus ostreatus* dengan reseptor MMP 2

Hasil docking molekul ligan senyawa aktif *Pleurotus ostreatus* dengan reseptor MMP 2 menggunakan software PyRx disajikan ke dalam tabel 5.2

Tabel 5.2 Tabel Hasil Docking Menggunakan PyRx

NO	SENYAWA AKTIF	Binding Affinity ΔG°	rmsd/ub	rmsd/lb
1	<i>dehydroergosterol</i>	-8,8	0	0
2	<i>Ergosterol</i>	-8,8	0	0
3	<i>Ergosta-7,22-dienol</i>	-8,8	0	0
4	<i>Catechin</i>	-9,1	0	0
5	<i>Quercetin</i>	-8,6	0	0
6	<i>Chrysin</i>	-8,5	0	0
7	<i>1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)</i>	-9,1	0	0
8	LIGAN KONTROL SC-74020	-8,3	0	0

5.1.3 Hasil analisis identifikasi asam amino molekul ligan senyawa aktif

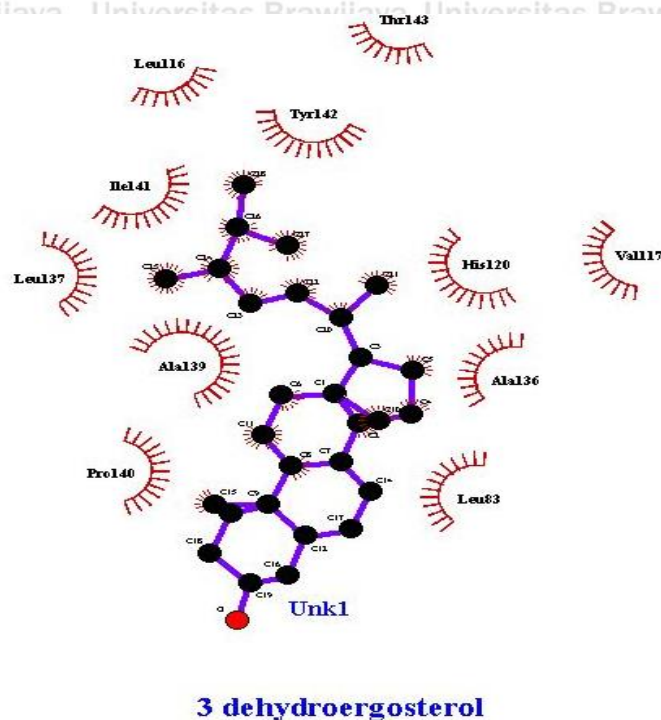
Pleurotus ostreatus dengan reseptor MMP 2

Hasil visualisasi ikatan molekul *dehydroergosterol* dengan MMP 2 menggunakan aplikasi PyMOL dengan bentuk tiga dimensi disajikan dalam Gambar 5.1.



Gambar 5.1 Visualisasi Kompleks *dehydroergosterol* dengan MMP 2

Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks *dehydroergosterol* dengan MMP 2 dan jenis ikatan yang terlibat pada kompleks menggunakan aplikasi LigPlot disajikan dalam Gambar 5.2 dengan rincian seperti pada Tabel 5.3. Dari gambar 5.2 didapatkan data bahwa ada sebanyak 11 ikatan hidrofobik yang terbentuk pada kompleks *dehydroergosterol* dengan MMP 2. Ikatan-ikatan tersebut menunjukkan adanya interaksi antar asam amino pada ligan dan protein.



Gambar 5.2 Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks *dehydroergosterol* dengan MMP 2.

Tabel 5.3 Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks *dehydroergosterol* dengan MMP 2.

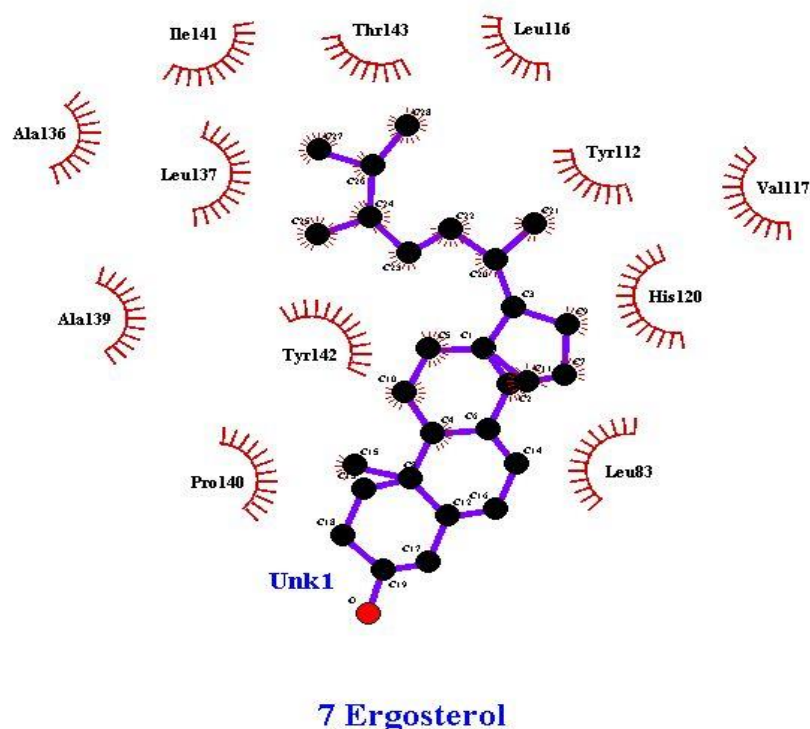
Jumlah	Protein	Ligand	Interaksi
Asam	Target		
Amino			
11	MMP 2	<i>dehydroergosterol</i>	Ikatan Hidrofobik : Thr143, Tyr142, Leu116, Ile141, Leu137, Ala139, Pro140, His120, Ala136, Leu83, Val117

Hasil visualisasi ikatan molekul *ergosterol* dengan MMP 2 menggunakan aplikasi PyMOL dengan bentuk tiga dimensi disajikan dalam Gambar 5.3.



Gambar 5.3 Visualisasi Kompleks *Ergosterol* dengan MMP 2

Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks *Ergosterol* dengan MMP 2 dan jenis ikatan yang terlibat pada kompleks menggunakan aplikasi LigPlot disajikan dalam Gambar 5.4 dengan rincian seperti pada Tabel 5.4. Dari gambar 5.4 didapatkan data bahwa ada sebanyak 12 ikatan hidrofobik yang terbentuk pada kompleks *Ergosterol* dengan MMP 2. Ikatan-ikatan tersebut menunjukkan adanya interaksi antar asam amino pada ligan dan protein.



Gambar 5.4 Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks *Ergosterol* dengan MMP 2.

Tabel 5.4 Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks *Ergosterol* dengan MMP 2.

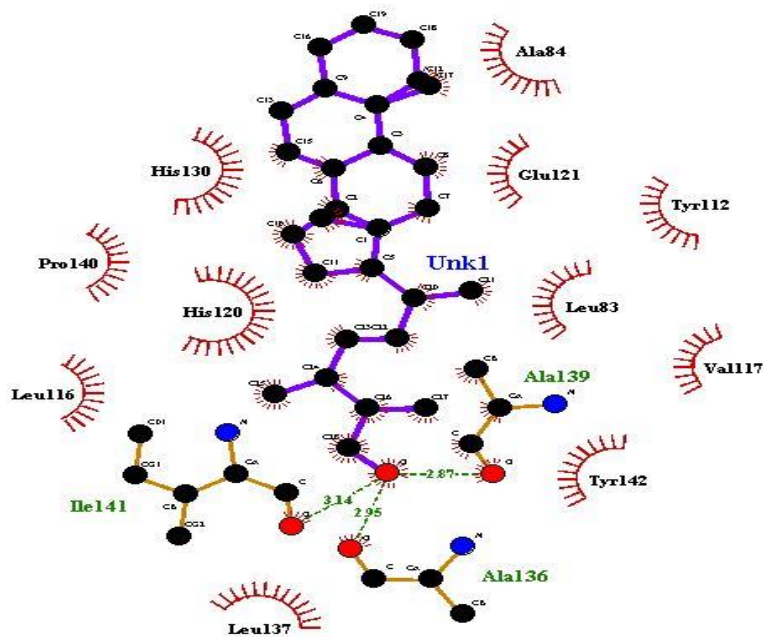
Jumlah Asam Amino	Protein Target	Ligand	Interaksi
12	MMP 2	<i>Ergosterol</i>	Ikatan Hidrofobik : Thr143, Ile141, Ala136, Leu137, Ala139, Tyr142, Pro140, Leu116, Tyr112, His120, Leu83, Val117

Hasil visualisasi ikatan molekul *Ergosta-7,22-dienol* dengan MMP 2 menggunakan aplikasi PyMOL dengan bentuk tiga dimensi disajikan dalam Gambar 5.5.



Gambar 5.5 Visualisasi Kompleks *Ergosta-7,22-dienol* dengan MMP 2

Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks *Ergosta-7,22-dienol* dengan MMP 2 dan jenis ikatan yang terlibat pada kompleks menggunakan aplikasi LigPlot disajikan dalam Gambar 5.6 dengan rincian seperti pada Tabel 5.5. Dari gambar 5.6 didapatkan data bahwa ada sebanyak 11 ikatan hidrofobik dan 3 ikatan hidrogen yang terbentuk pada kompleks *Ergosta-7,22-dienol* dengan MMP 2. Ikatan-ikatan tersebut menunjukkan adanya interaksi antar asam amino pada ligan dan protein.



11 Ergosta-7,22-dienol

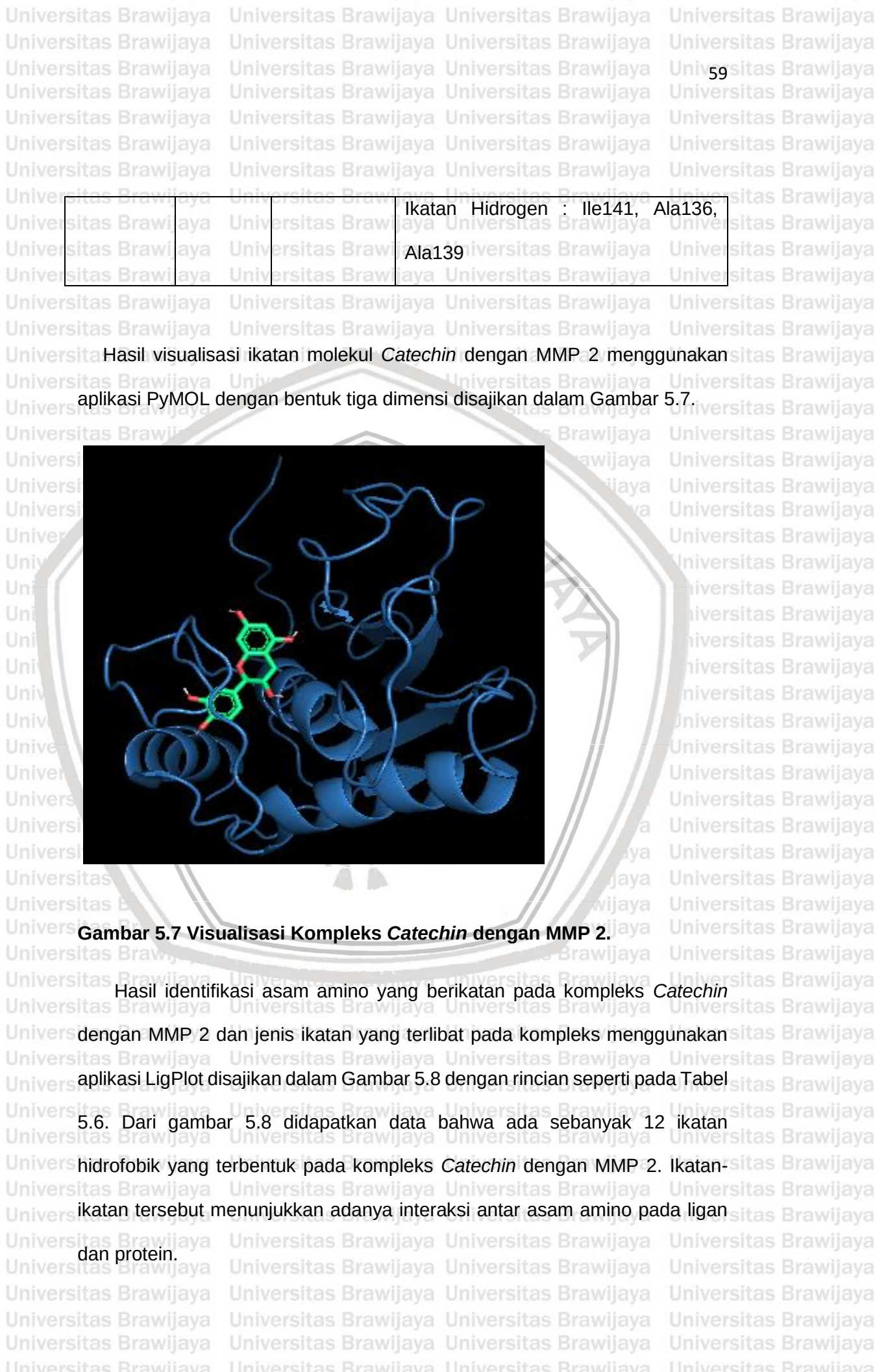
Gambar 5.6 Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks *Ergosta-7,22-dienol* dengan MMP 2.

Tabel 5.5 Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks *Ergosta-7,22-dienol* dengan MMP 2.

Jumlah Asam Amino	Protein Target	Ligand	Interaksi
14	MMP 2	<i>Ergosta-7,22-dienol</i>	Ikatan Hidrofobik : His130, His120, Pro140, Leu116, Leu137, Ala84, Glu121, Leu83, Tyr142, Tyr112, Val117

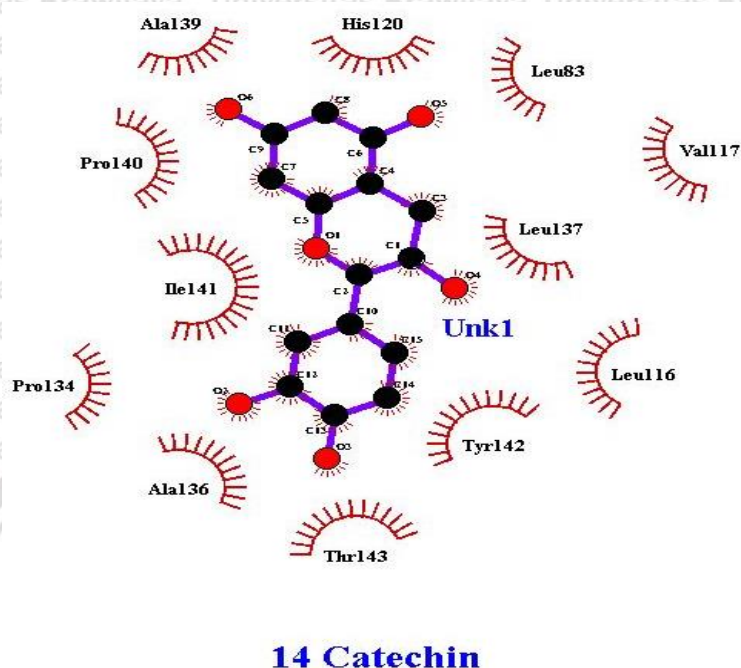
			Ikatan Hidrogen : Ile141, Ala136, Ala139
--	--	--	---

			Ikatan Hidrogen : Ile141, Ala136, Ala139
--	--	--	---



			Ikatan Hidrogen : Ile141, Ala136, Ala139
--	--	--	---

			Ikatan Hidrogen : Ile141, Ala136, Ala139
--	--	--	---



Gambar 5.8 Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks *Catechin* dengan MMP 2.

Tabel 5.6 Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks *Catechin* dengan MMP 2.

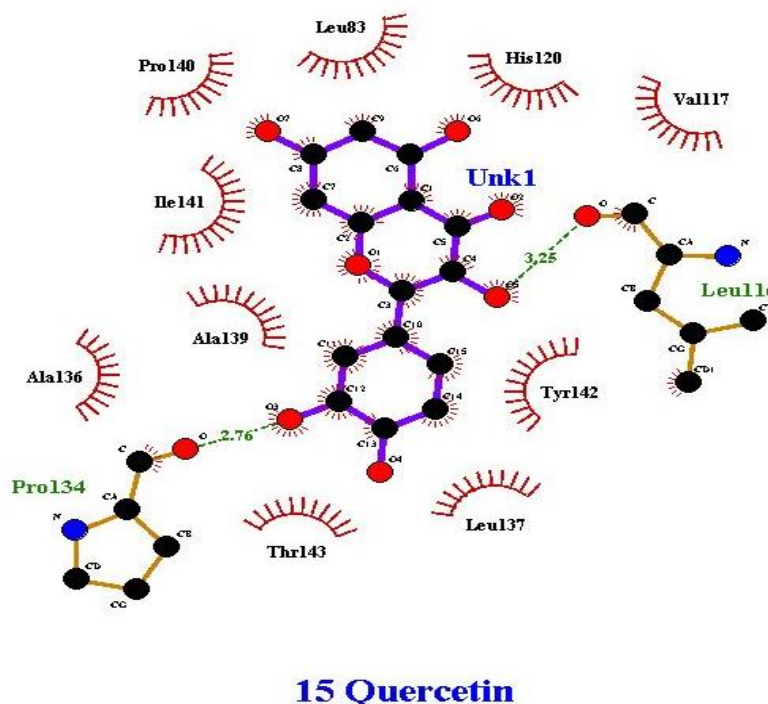
Jumlah Asam Amino	Protein Target	Ligand	Interaksi
12	MMP 2	<i>Catechin</i>	Ikatan Hidrofobik : Ala139, Pro140, Ile141, Pro134, Ala136, His120, Thr143, Leu83, Leu137, Tyr142, Val117, Leu116.

Hasil visualisasi ikatan molekul *Quercetin* dengan MMP 2 menggunakan aplikasi PyMOL dengan bentuk tiga dimensi disajikan dalam Gambar 5.9.



Gambar 5.9 Visualisasi Kompleks *Quercetin* dengan MMP 2.

Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks *Quercetin* dengan MMP 2 dan jenis ikatan yang terlibat pada kompleks menggunakan aplikasi LigPlot disajikan dalam Gambar 5.10 dengan rincian seperti pada Tabel 5.7. Dari gambar 5.10 didapatkan data bahwa ada sebanyak 10 ikatan hidrofobik dan 2 ikatan hidrogen yang terbentuk pada kompleks *Quercetin* dengan MMP 2. Ikatan-ikatan tersebut menunjukkan adanya interaksi antar asam amino pada ligan dan protein.

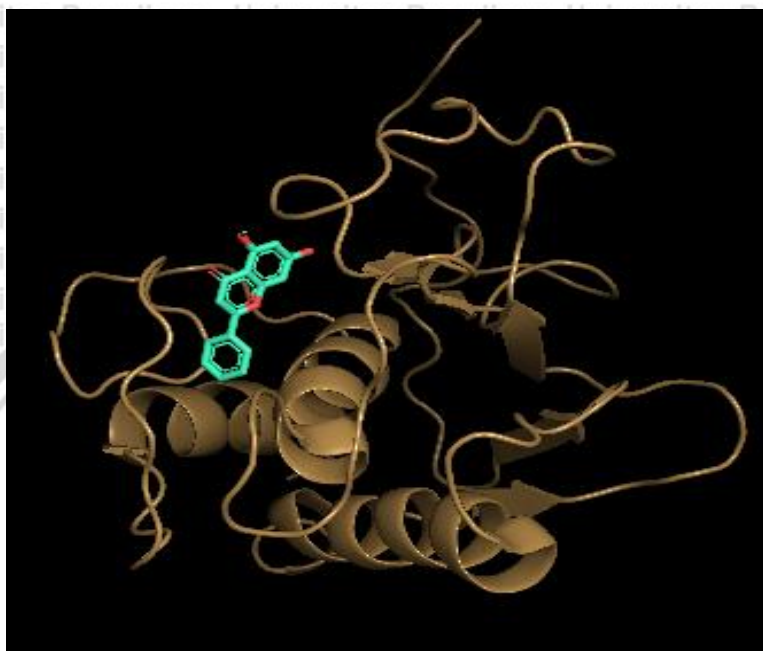


Gambar 5.10 Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks *Quercetin* dengan MMP 2.

Tabel 5.7 Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks *Quercetin* dengan MMP 2.

Jumlah	Protein	Ligand	Interaksi
Asam Amino	Target		
12	MMP 2	<i>Quercetin</i>	Ikatan Hidrofobik : Pro140, Ile141, Ala139, Ala136, Leu83, Thr143, His120, Leu137, Tyr142, Val117 Ikatan Hidrogen : Pro134, Leu116.

Hasil visualisasi ikatan molekul *Chrysin* dengan MMP 2 menggunakan aplikasi PyMOL dengan bentuk tiga dimensi disajikan dalam Gambar 5.11.



Gambar 5.11 Visualisasi Kompleks *Chrysin* dengan MMP 2.

Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks *Chrysin* dengan MMP 2 dan jenis ikatan yang terlibat pada kompleks menggunakan aplikasi LigPlot disajikan dalam Gambar 5.12 dengan rincian seperti pada Tabel 5.8. Dari gambar 5.12 didapatkan data bahwa ada sebanyak 8 ikatan hidrofobik dan 1 ikatan hidrogen yang terbentuk pada kompleks *Chrysin* dengan MMP 2. Ikatan-ikatan tersebut menunjukkan adanya interaksi antar asam amino pada ligan dan protein

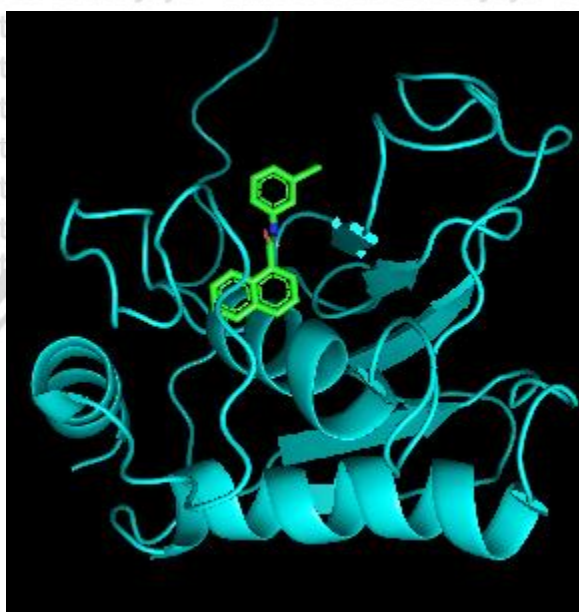


Gambar 5.12 Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks *Chrysin* dengan MMP 2.

Tabel 5.8 Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks *Chrysin* dengan MMP 2.

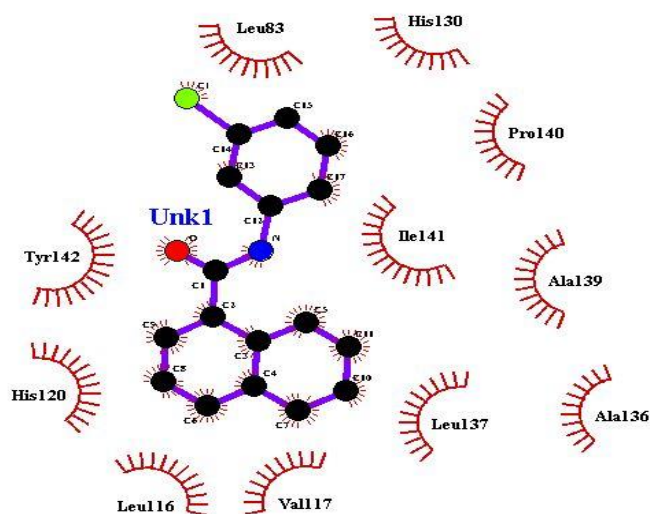
Jumlah Asam Amino	Protein Target	Ligand	Interaksi
9	MMP 2	<i>Chrysin</i>	Ikatan Hidrofobik : Leu83, Pro140, Ile141, Leu137, Leu116, Tyr142, His120, Val117. Ikatan Hidrogen : Ala84.

Hasil visualisasi ikatan molekul *1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)* dengan MMP 2 menggunakan aplikasi PyMOL dengan bentuk tiga dimensi disajikan dalam Gambar 5.13.



Gambar 5.13 Visualisasi Kompleks *1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)* dengan MMP 2.

Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks *1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)* dengan MMP 2 dan jenis ikatan yang terlibat pada kompleks menggunakan aplikasi LigPlot disajikan dalam Gambar 5.14 dengan rincian seperti pada Tabel 5.9. Dari gambar 5.14 didapatkan data bahwa ada sebanyak 11 ikatan hidrofobik yang terbentuk pada kompleks *1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)* dengan MMP 2. Ikatan-ikatan tersebut menunjukkan adanya interaksi antar asam amino pada ligan dan protein



18 1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)

Gambar 5.14 Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks 1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl) dengan MMP

2.

Tabel 5.9 Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks 1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl) dengan MMP 2.

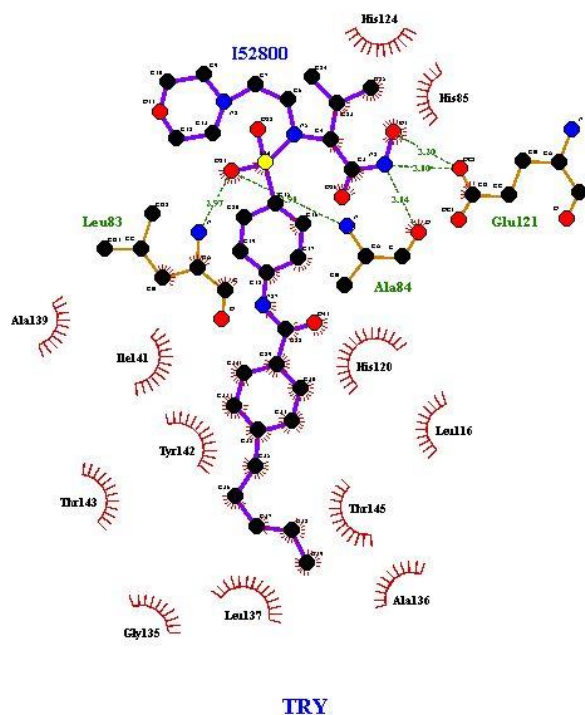
Jumlah Asam Amino	Protein Target	Ligand	Interaksi
11	MMP 2	1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)	Ikatan Hidrofobik : Leu83, Tyr142, His120, Leu116, Val117, Leu137, Ile141, His130, Pro140, Ala139, Ala136

Hasil visualisasi ikatan molekul Ligan Kontrol SC-74020 dengan MMP 2 menggunakan aplikasi PyMOL dengan bentuk tiga dimensi disajikan dalam Gambar 5.15.



Gambar 5.15 Visualisasi Kompleks Ligan Kontrol SC-74020 dengan MMP2.

Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks SC-74020 dengan MMP 2 dan jenis ikatan yang terlibat pada kompleks menggunakan aplikasi LigPlot disajikan dalam Gambar 5.16 dengan rincian seperti pada Tabel 5.10. Dari gambar 5.16 didapatkan data bahwa ada sebanyak 15 ikatan hidrofobik yang terbentuk pada kompleks SC-74020 dengan MMP 2. Ikatan-ikatan tersebut menunjukkan adanya interaksi antar asam amino pada ligan dan protein



Gambar 5.16 Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks SC-74020 dengan MMP 2.

Tabel 5.10 Hasil identifikasi asam amino yang berikatan pada kompleks SC-74020 dengan MMP 2.

Jumlah Asam Amino	Protein Target	Ligand	Interaksi
15	MMP 2	SC-74020 (Ligan Kontrol)	Ikatan Hidrofobik : Gly135, Leu137, Ala136, Thr145, Thr143, Tyr142, Leu116, Ile141, Ala139, His120, His85, His124.

			Ikatan Hidrogen : Ala84, Glu121, Leu83.
--	--	--	--

Tabel 5.11 Perbandingan Ikatan Asam Amino pada semua senyawa *Pleurotus ostreatus* dengan Ligan Kontrol

NO	Total A.Amino	Protein Target	Ligand	Interaksi
1	11	MMP 2	<i>dehydroergosterol</i>	Ikatan Hidrofobik : Thr143, Tyr142, Leu116, Leu137, Ala139, His120, Ala136, Val117. Ikatan Hidrogen : Ile141, Pro140, Leu83,
2	12	MMP 2	<i>Ergosterol</i>	Ikatan Hidrofobik : Thr143, Ile141, Ala136, Leu137, Ala139, Tyr142, Pro140, Tyr112, His120, Leu83, Val117.
3	14	MMP 2	<i>Ergosta-7,22-dienol</i>	Ikatan Hidrofobik : His130, His120, Pro140, Leu116, Leu137, Ala84, Glu121, Leu83, Tyr142, Tyr112, Val117. Ikatan Hidrogen : Ile141, Ala136, Ala139.
4	12	MMP 2	<i>Catechin</i>	Ikatan Hidrofobik : Ala139, Pro140, Ile141, Pro134, Ala136, His120, Thr143, Leu83, Leu137, Tyr142, Val117, Leu116.
5	12	MMP 2	<i>Quercetin</i>	Ikatan Hidrofobik : Pro140, Ile141, Ala139, Ala136, Leu83, Thr143, His120, Leu137, Tyr142, Val117. Ikatan Hidrogen : Pro134, Leu116.
6	9	MMP 2	<i>Chrysin</i>	Ikatan Hidrofobik : Leu83, Pro140, Ile141, Leu137, Leu116, Tyr142, His120, Val117. Ikatan Hidrogen : Ala84.

7	11	MMP 2	1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)	Ikatan Hidrofobik : Leu83, Tyr142, His120, Leu116, Val117, Leu137, Ile141, His130, Pro140, Ala139, Ala136.
8	15	MMP 2	SC-74020 (Ligan Kontrol)	Ikatan Hidrofobik : Gly135, Leu137, Ala136, Thr145, Thr143, Tyr142, Leu116, Ile141, Ala139, His120, His85, His124.

Tabel 5.11 menunjukkan bahwa terdapat 8 ikatan asam amino yang sama antara *dehydroergosterol* dengan MMP2 jika dibandingkan dengan Ligan kontrol pada MMP 2, yaitu Leu137, Ala136, Thr143, Tyr142, Leu116, Ile141, Ala139, dan His120. Begitu pula dengan *Ergosterol*, *Ergosta-7,22-dienol*, *Catechin*, dan *Quercetin* yang juga memiliki 8 ikatan yang sama seperti *dehydroergosterol*. Selanjutnya pada *Chrysin* terdapat 5 ikatan asam amino yang sama yaitu Leu137, Tyr142, Leu116, Ile141, dan His120. Sedangkan 1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl) terdapat 7 ikatan asam amino yang sama yaitu Leu137, Ala136, Tyr142, Leu116, Ile141, Ala139, His120.

5.2 Screening Ligan Berdasarkan Drug Likeness (Drug Scan)

Hasil screening untuk mengetahui sifat kesamaan dengan obat yang telah ada atau *Drug Likeness* dari 7 senyawa yang memiliki nilai afinitas lebih rendah dibandingkan dengan ligan kontrol adalah menggunakan aturan Lipinski atau yang biasa disebut dengan *Lipinski's Rule of Five*. Dari ketujuh senyawa tersebut menunjukkan bahwa semuanya memiliki lebih dari dua kriteria yang dipersyaratkan sebagai *Drug Likeness* (tabel 5.11). Kriteria tersebut adalah :

1. Berat molekul kurang dari 500 g/mol

2. Memiliki lipofilisitas tinggi (logP kurang dari 5)
3. Donor ikatan hidrogen kurang dari 5
4. Akseptor ikatan hidrogen kurang dari 10
5. Molar Refractory antara 40-130

Tabel 5.12 Hasil Lipinski pada Ligan - ligan *Pleurotus ostreatus*.

No	Ligan	Molecular Weight (Dalton)	H bond donor	H bond acceptor	Log P	Molar Refractivity
1	<i>dehydroergosterol</i>	394	1	1	7.250903[#]	123.457748
2	<i>Ergosterol</i>	396	1	1	7.330802[#]	123.481750
3	<i>Ergosta-7,22-dienol</i>	398	1	1	7.412302[#]	123.527748
4	<i>Catechin</i>	290	5[#]	6	1.546100	72.622978
5	<i>Quercetin</i>	302	5[#]	7	2.010900	74.050476
6	<i>Chrysin</i>	254	2	4	2.713999	69.149078
7	<i>1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)</i>	281,5	1	2	4.745500	83.353180

Keterangan : Tanda # (pagar) dengan *bold* menunjukkan hasil kurang sesuai.

5.3. Hasil screening Bioavailabilitas Oral Standard dan Ligan

Hasil screening untuk mengetahui tingkat bioavailabilitas oral dari 7 senyawa yang memiliki nilai afinitas lebih rendah dibandingkan dengan ligan kontrol menggunakan menggunakan software online Molinspirations (www.molinspirations.com).

5.3.1 Hasil screening Bioavailabilitas Oral Standard dan Ligan (*Veber's Rules*)

Hasil screening tingkat bioavailabilitas sesuai *Veber's rule* ditunjukkan oleh tabel 5.13. Dari ketujuh senyawa yang diuji menunjukkan bahwa semuanya memiliki bioavailabilitas oral yang baik sesuai *Veber's rule*. Ketujuh senyawa tersebut memenuhi kriteria, yaitu :

1. Rotatable bonds kurang dari atau sama dengan 10 (sepuluh) dan ;
2. tPSA (Topological Polar Surface Area) kurang dari atau sama dengan 140 Å, atau ;
3. Total H-bonds + H-acceptor kurang dari atau sama dengan 12 (dua belas)

Tabel 5.13 Hasil screening Bioavailabilitas Oral Standard dan Ligan (*Veber's Rules*)

No	Ligan	H bond acceptor + H bond donor	tPSA (Å)	rotatable bond
1	<i>dehydroergosterol</i>	2	20.23	4
2	<i>Ergosterol</i>	2	20.23	4
3	<i>Ergosta-7,22-dienol</i>	2	20.23	5
4	<i>Catechin</i>	11	110.37	1
5	<i>Quercetin</i>	12	131.25	1
6	<i>Chrysin</i>	6	70.76	1
7	<i>1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)</i>	3	29.10	2

Keterangan : Menunjukkan semua hasil sesuai kriteria.

5.3.2 Hasil screening Bioavailabilitas Oral Standard dan Ligan (*Egan's Rules*)

Hasil screening tingkat bioavailabilitas sesuai *Egan's Rules* ditunjukkan oleh tabel 5.14. Berdasarkan *Egan's Rules* suatu molekul dikatakan memiliki tingkat bioavailabilitas oral yang baik apabila memenuhi kriteria, yaitu :

$$1. 0 < \text{tPSA} \leq 132 \text{ \AA}$$

$$2. -1 < \log P \leq 6$$

Dari ketujuh senyawa yang diuji, *dehydroergosterol*, *ergosterol* dan *Ergosta-7,22-dienol* tidak memenuhi bioavailabilitas oral yang baik sesuai *Egan's Rules* karena nilai logP lebih dari 6. Sedangkan *Catechin*, *Quercetin*, *Chrysin* dan *1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)* memenuhi bioavailabilitas oral yang baik sesuai *Egan's Rule*.

Tabel 5.14 Hasil screening Bioavailabilitas Oral Standard dan Ligan (*Egan's Rules*)

No	Ligan	logP	tPSA Å
1	<i>dehydroergosterol</i>	7[#]	20.23
2	<i>Ergosterol</i>	7.18[#]	20.23
3	<i>Ergosta-7,22-dienol</i>	6.99[#]	20.23
4	<i>Catechin</i>	1.37	110.37
5	<i>Quercetin</i>	1.68	131.35
6	<i>Chrysin</i>	2.94	70.76
7	<i>1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)</i>	4.64	29.10

Keterangan : Tanda [#] (pagar) dengan **bold** menunjukkan hasil kurang sesuai.

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Hasil Docking Senyawa Aktif Ekstrak Jamur Tiram terhadap MMP 2

6.1.1. Senyawa Aktif Jamur Tiram yang Digunakan dalam *Molecular**Docking*

Pleurotus ostreatus memiliki senyawa aktif yang terkait dengan mekanisme aksi anti kanker. Kemungkinan mekanisme kerja zat ini terjadi melalui penghambatan degradasi *extracellular matrix* (ECM), penghambatan neovaskularisasi atau angiogenesis, serta pencegahan invasi sel kanker dan metastasis (Mohammed dan Farghaly, 2014) (Dipan, 2018). MMP merupakan endopeptidase golongan *zinc dependent* yang berperan penting dalam proses degradasi ECM. Degradasi pada ECM penting dalam proses perkembangan, *morphogenesis*, *tissue repair* dan *remodelling*. Namun, apabila terjadi disregulasi maka akan menjadi penyebab dari berbagai macam disease, salah satunya adalah kanker (Bogenrider *et al*, 2003), (Hideaki, *et al*, 2006). Dalam berbagai jenis kanker, peningkatan ekspresi MMP dan aktivasi umumnya meningkatkan tanda adanya perkembangan tumor termasuk angiogenesis, invasi dan metastasis, dan berkorelasi dengan kelangsungan hidup yang lebih pendek (Said *et al*, 2014). Sampai saat ini, telah teridentifikasi kurang lebih 28 jenis MMP, salah satunya adalah MMP 2 yang berfungsi memecah kolagen tipe IV. Peningkatan MMP 2 telah terbukti sebagai faktor prognostik independen pada kanker kolorektal (Kahari *et al*, 2002). Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan sebagai bentuk pendekatan molekuler dengan menjadikan MMP 2

sebagai target dan senyawa aktif *Pleurotus ostreatus* sebagai ligan menggunakan metode *in silico molecular docking*.

Untuk mengaktifkan MMP 2, Pro MMP 2 perlu diubah menjadi activated MMP 2 dengan cara menempel pada reseptor MT1-MMP. Akibat dari teraktifasinya MMP2 menyebabkan degradasi dari ECM (Extracellular Membran) dan menghasilkan *Pro Tumorigenic ECM signalling*. Namun MMP 2 dapat di inhibisi menggunakan *standard inhibitor* ligand dari MMP 2, yaitu *Hydroxamic acid Inhibitor* atau SC-74020 (National Center for Biotechnology Information, 2004), sehingga molekul ini digunakan sebagai ligan kontrol.

Melalui studi literatur, didapatkan 40 senyawa aktif jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) yang selanjutnya dilakukan *screening* kandidat yang akan dipilih untuk dilakukan penelitian lebih lanjut (Mohammed dan Farghaly, 2014) (Dipan, 2018). Hasil docking 40 senyawa aktif *Pleurotus ostreatus* dapat dilihat pada Lampiran 18. Pada hasil didapatkan 7 senyawa yang memiliki nilai afinitas lebih rendah dibandingkan dengan ligan kontrol SC-74020 yaitu *Dehydroergosterol*, *Ergosterol*, *Ergosta-7,22-dienol*, *Catechin*, *Quercetin*, *Chrysin* dan *1-naphtalenecarboxamide*.

Selanjutnya dilakukan uji PASS untuk memprediksi aktivitas biologis dari suatu senyawa. PASS merupakan metode komputasi berbasis *website* yang dapat diakses melalui link <http://www.way2drug.com/PASSOnline> (Jamkhander, 2014). Dengan PASS, aktivitas biologis atau potensi bioaktivitas senyawa aktif dapat diketahui secara kuantitatif. Hasil PASS menunjukkan sejumlah aktivitas biologi kemungkinan aktif Pa (*probable activity*) dan kemungkinan tidak aktif Nilai Pi (*probable inactivity*). Semakin besar Pa, semakin tinggi potensi bioaktivitas (Pramesy, 2012). Berdasarkan prediksi uji PASS, senyawa aktif

jamur tiram yang memiliki nilai rata-rata Pa bioaktivitas antikanker diurutkan dari yang paling tinggi ke rendah adalah *Quercetin*, *Catechin*, *Chrysin*, *Ergosterol*, *Dehydroergosterol*, *Ergosta-7,22-dienol*, dan *1-naphtalenecarboxamide*. Dijelaskan lebih rinci pada Tabel 5.1.

Sebelum melanjutkan ke tahap *molecular docking*, perlu dipastikan terlebih dahulu apakah tiap senyawa aktif dari ekstrak jamur tiram dapat berikatan langsung dengan MMP 2 atau protein lain yang masih ada hubungan ekspresi dengan MMP 2. Prediksi dapat dilakukan menggunakan *SwissTarget Prediction*, metode komputasi yang dapat diakses melalui link <http://www.swisstargetprediction.ch/> atau dapat menggunakan SEA LAB melalui website <https://sea.bkslab.org/>.

Peneliti perlu memasukkan SMILES atau struktur dua dimensi dari senyawa aktif, lalu website akan mengolah data hingga akhirnya diperoleh daftar protein-protein yang diprediksi dapat berikatan langsung dengan senyawa tersebut. Setelah dilakukan uji *SwissTarget Prediction* atau SEA LAB pada tiap senyawa aktif jamur tiram, didapatkan *Quercetin* dan *Chrysin* mampu berikatan langsung dengan MMP2 dan senyawa *Catechin*, *Ergosterol*, *Dehydroergosterol*, *Ergosta-7,22-dienol*, dan *1-naphtalenecarboxamide* mampu berikatan dengan protein lain yang masih ada hubungan ekspresi dengan MMP 2. Sehingga pada penelitian ini ke 7 senyawa dapat dilanjutkan untuk dilakukan *docking* dengan MMP 2. Hasil uji tiap senyawa aktif jamur tiram dengan aplikasi *SwissTarget Prediction* atau SEA LAB dapat dilihat pada Lampiran 19.

6.1.2. Hasil analisis binding affinity molekul ligan senyawa aktif *Pleurotus ostreatus* dengan reseptor MMP 2

Digunakannya *In silico* dalam penelitian ini adalah untuk menemukan senyawa obat baru dan meningkatkan efisiensi pada optimasi senyawa induk sehingga diperoleh senyawa yang lebih poten. Keuntungan pada metode ini adalah dapat digunakan dalam memprediksi, memberikan hipotesa dan menjadi suatu penemuan baru dalam suatu pengobatan maupun terapi (Hardjono, 2013). Salah satu contoh dari penelitian *in silico* adalah *molecular docking* yang diharapkan senyawa aktif ligan dapat membentuk ikatan pada posisi yang sama dengan ligan kontrol, dengan begitu dapat dilakukan penilaian *binding affinity* untuk mengetahui potensi ikatan ligan pada protein target (Chaudhary dan Mishra, 2016).

Hasil docking dengan PyRx menunjukkan bahwa *Catechin* dan *1-naphthalenecarboxamide* memiliki nilai *binding affinity* paling baik yaitu -9,1 kkal/mol. Diikuti oleh *Dehydroergosterol*, *Ergosterol* dan *Ergosta-7,22-dienol* dengan nilai *binding affinity* -8,8 kkal/mol. Lalu diurutan ketiga *Quercetin* dengan nilai *binding affinity* -8,6 kkal/mol. Terakhir, *Chrysin* dengan nilai *binding affinity* -8,5 kkal/mol. Hasil akhir yang didapat dari penelitian docking adalah suatu afinitas ikatan dari kompleks molekul. Nilai negatif mengindikasikan ikatan pada kompleks molekul. Apabila semakin rendah / negatif pada nilai afinitas ikatan menggambarkan bahwa ikatan stabil dan mudah untuk dibentuk. Namun, apabila nilai energi lebih besar menunjukkan bahwa kompleks yang terbentuk kurang stabil. Suatu afinitas ikatan dapat dikatakan stabil apabila nilai afinitas lebih rendah daripada ligan kontrol yaitu SC-74020 dengan *binding affinity* sebesar -8,3 kkal/mol (Yunta, 2016). Maka dapat dikatakan bahwa

ikatan ketujuh senyawa mampu menciptakan ikatan yang stabil karena mampu memenuhi kriteria lebih rendah daripada ligan kontrol. Dan ikatan yang memiliki kestabilan paling baik adalah *Catechin* dan *1-naphtalenecarboxamide*.

6.1.3. Hasil analisis identifikasi asam amino molekul ligan senyawa aktif *Pleurotus ostreatus* dengan reseptor MMP 2

Nilai *binding affinity* suatu kompleks ikatan dipengaruhi oleh jumlah interaksi yang terbentuk antara ligan dan target. Semakin banyak jumlah interaksi maka nilai *binding affinity* akan semakin negatif yang menandakan ikatan tersebut semakin stabil (Chaudhary dan Mishra, 2016). Pada hasil visualisasi asam amino yang berinteraksi pada kompleks *Dehydroergosterol* dengan MMP 2 terdapat 11 interaksi ikatan hidrofobik. Sedangkan pada kompleks *Ergosterol* dengan MMP 2 terdapat 12 ikatan hidrofobik. Kompleks *Ergosta-7,22-dienol* dengan MMP 2 terdapat 11 ikatan hidrofobik dan 3 ikatan hidrogen. Kompleks *Catechin* dengan MMP 2 terdapat 12 ikatan hidrofobik. Kompleks *Quercetin* dengan MMP 2 terdapat 10 ikatan hidrofobik dan 2 ikatan hidrogen. Kompleks *Chrysin* dengan MMP 2 terdapat 8 ikatan hidrofobik dan 1 ikatan hidrogen. Kompleks *1-naphtalenecarboxamide* dengan MMP 2 terdapat 11 ikatan hidrofobik. Dan yang terakhir, kompleks SC-74020 dengan MMP 2 terdapat 15 ikatan hidrofobik.

Kemiripan aktivitas dan jenis interaksi dari ligan uji dan ligan kontrol ditandai dengan kemiripan hasil residu asam amino yang mendekati ligan kontrol sebagai ligan pembanding. Jika residu asam amino ligan uji mirip dengan ligan kontrol, maka aktivitas dan jenis interaksi antara ligan tersebut hampir sama (Pratama, 2016) Berdasarkan tabel 5.11 menunjukkan bahwa terdapat 8 ikatan asam

amino yang sama antara *dehydroergosterol* dengan MMP2 jika dibandingkan dengan Ligan kontrol pada MMP 2, yaitu Leu137, Ala136, Thr143, Tyr142, Leu116, Ile141, Ala139, dan His120. Begitu pula dengan *Ergosterol*, *Ergosta-7,22-dienol*, *Catechin*, dan *Quercetin* yang juga memiliki 8 ikatan yang sama seperti *dehydroergosterol*. Selanjutnya pada *Chrysin* terdapat 5 ikatan asam amino yang sama yaitu Leu137, Tyr142, Leu116, Ile141, dan His120. Sedangkan *1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)* terdapat 7 ikatan asam amino yang sama yaitu Leu137, Ala136, Tyr142, Leu116, Ile141, Ala139, His120.

Dari hasil dapat dikatakan bahwa ketujuh senyawa aktif *Pleurotus ostreatus* dapat berikatan dengan MMP 2 pada sisi aktif yaitu sisi pengikatan yang sama dengan ligan kontrol SC-74020. Dan dari analisis ini didapatkan *dehydroergosterol*, *Ergosterol*, *Ergosta-7,22-dienol*, *Catechin*, dan *Quercetin* dengan jumlah interaksi paling banyak yang dapat berikatan pada MMP 2 pada sisi aktif yang sama dengan ligan kontrol.

6.2. Screening Ligan Berdasarkan Drug Likeness (Drug Scan)

Kemiripan senyawa terhadap obat oral merupakan fokus dari *Drug Likeness*. *Drug Likeness* penting dilakukan sebelum suatu senyawa dapat diuji sebagai suatu obat. *Lipinski's Rule of Five* merupakan metode untuk mengevaluasi *Drug Likeness*. Kriteria tersebut adalah :

1. Berat molekul kurang dari 500 g / mol
2. Memiliki lipofilisitas tinggi (logP kurang dari 5)
3. Donor ikatan hidrogen kurang dari 5

4. Akseptor ikatan hidrogen kurang dari 10

5. Molar Refractory antara 40-130 (Wulandari, 2010).

Nilai massa yang melebihi kriteria menyebabkan senyawa gagal melakukan difusi untuk menembus membran sel. Sedangkan untuk nilai log P mengindikasikan toksisitas yang tinggi jika senyawa memiliki nilai yang melebihi dari kriteria. Hal ini disebabkan senyawa akan bertahan lebih lama di *lipid bilayer* dan terjadi distribusi yang lebih luas di dalam tubuh yang akhirnya dapat menyebabkan berkurangnya selektifitas ikatan pada enzim target. Di sisi lain nilai log P yang terlalu rendah juga tidak baik karena dapat menyebabkan senyawa gagal untuk menembus *lipid bilayer*. Selanjutnya, kriteria untuk jumlah donor ikatan hidrogen yaitu kurang dari 5 dan akseptor ikatan hidrogen yaitu kurang dari 10. Hal ini dikarenakan apabila semakin tinggi nilai dari kapasitas ikatan hidrogen maka energi untuk absorbs juga akan semakin tinggi (Syahputra dkk., 2011). Sifat kimia-fisika seperti, keasaman, kelarutan air, titik lebur, titik didih dan kemampuan dalam pembentukan kelat, yaitu pengikatan suatu atom dengan suatu ligan pada dua atau lebih lokasi ikatan dapat dipengaruhi oleh ikatan hidrogen. Perubahan tersebut berpengaruh pada aktivitas biologis. Kriteria terakhir yaitu Molar Refractory dengan nilai antara 40-130, nilai tersebut menunjukkan total polarisabilitas molekul obat yang bergantung tinggi pada tekanan, indeks bias dan suhu (Widianti, 2013).

Berdasarkan *Lipinski's Rule of Five*, ketujuh ligan memenuhi kriteria tersebut, karena kriteria uji minimal adalah memenuhi 2 atau lebih dari 5 syarat *Lipinski's Rule*. *Dehydroergosterol* dengan Molecular Weight 394 Dalton, donor ikatan hidrogen 1, akseptor ikatan hidrogen 1, Log P 7.250903 dan Molar

Refractory 123.457748. Pada nilai Log P *Dehydroergosterol* tidak memenuhi kriteria dikarenakan melebihi dari nilai normal. Selanjutnya, *Ergosterol* dengan Molecular Weight 396 Dalton, donor ikatan hidrogen 1, akseptor ikatan hidrogen 1, Log P 7.330802 dan Molar Refractory 123.481750. Pada nilai Log P *Ergosterol* tidak memenuhi kriteria dikarenakan melebihi dari nilai normal. Untuk *Ergosta-7,22-dienol* memiliki Molecular Weight 398 Dalton, donor ikatan hidrogen 1, akseptor ikatan hidrogen 1, Log P 7.412302 dan Molar Refractory 123.527748. Pada nilai Log P *Ergosta-7,22-dienol* tidak memenuhi kriteria dikarenakan melebihi dari nilai normal. Selanjutnya *Catechin* memiliki Molecular Weight 290 Dalton, donor ikatan hidrogen 5, akseptor ikatan hidrogen 6, Log P 1.546100 dan Molar Refractory 72.622978. Untuk *Quercetin* dengan Molecular Weight 302 Dalton, donor ikatan hidrogen 5, akseptor ikatan hidrogen 7, Log P 2.010900 dan Molar Refractory 74.050476. Selanjutnya, *Chrysin* dengan Molecular Weight 254 Dalton, donor ikatan hidrogen 2, akseptor ikatan hidrogen 4, Log P 2.7113999 dan Molar Refractory 69.149078. Dan yang terakhir yaitu *1-naphtalenecarboxamide* memiliki Molecular Weight 281,5 Dalton, donor ikatan hidrogen 1, akseptor ikatan hidrogen 2, Log P 4.745500 dan Molar Refractory 83.353180.

Didapatkan *Dehydroergosterol*, *Ergosterol*, dan *Ergosta-7,22-dienol* memenuhi 4 dari 5 kriteria, sedangkan *Catechin*, *Quercetin*, *Chrysin* dan *1-naphtalenecarboxamide* memenuhi kelima kriteria. Sehingga ketujuh senyawa *Pleurotus ostreatus* yaitu *Dehydroergosterol*, *Ergosterol*, *Ergosta-7,22-dienol*, *Catechin*, *Quercetin*, *Chrysin* dan *1-naphtalenecarboxamide* mampu memenuhi kriteria uji minimal yaitu dengan memenuhi 2 atau lebih dari 5 syarat *Lipinski's Rule*.

6.3 Hasil screening Bioavailabilitas Oral Standard dan Ligan.

Bioavailabilitas oral dengan nilai yang tinggi merupakan pertimbangan yang penting untuk mengembangkan suatu molekul bioaktif sebagai suatu terapi.

Terdapat dua aturan skrining bioavailabilitas oral yaitu, Veber's rule (Veber *et al.*, 2002) dan Egan's Rule (Egan *et al.*, 2000). Kriteria dari Veber's rule adalah :

1. Rotatable bonds kurang dari atau sama dengan 10 (sepuluh) dan ;
2. tPSA (Topological Polar Surface Area) kurang dari atau sama dengan 140 Å², atau ;
3. Total H-bonds + H-acceptor kurang dari atau sama dengan 12 (dua belas)

Sedangkan untuk Egan's Rule adalah :

1. $0 < \text{tPSA} \leq 132 \text{ Å}^2$
2. $-1 < \log P \leq 6$ (Wulandari, 2010).

Untuk *Veber's rule* ketujuh senyawa memenuhi semua ketiga kriteria yaitu *Dehydroergosterol* dengan donor HB dan akseptor HB 2, tPSA 20.23 dan ikatan rotasi 4. Untuk *Ergosterol* dengan donor HB dan akseptor HB 2, tPSA 20.23 dan ikatan rotasi 4. Selanjutnya, *Ergosta-7,22-dienol* memiliki donor HB dan akseptor HB 2, tPSA 20.23 dan ikatan rotasi 5. Untuk *Catechin* dengan donor HB dan akseptor HB 11, tPSA 110.3 dan ikatan rotasi 1. *Quercetin* memiliki donor HB dan akseptor HB 12, tPSA 131.25 dan ikatan rotasi 1. *Chrysin* dengan donor HB dan akseptor HB 6, tPSA 70.76 dan ikatan rotasi 1. Dan terakhir, *1-naphtalenecarboxamide* memiliki donor HB dan akseptor HB 3, tPSA 29.10 dan ikatan rotasi 2.

Sedangkan untuk *Egan's Rules* hanya *Catechin*, *Quercetin*, *Chrysin* dan *1-naphtalenecarboxamide* yang memenuhi kriteria. Yaitu, *Dehydroergosterol* dengan Log P 7 (melebihi nilai normal yaitu ≤ 6) dan tPSA 20.23. *Ergosterol* dengan Log P 7.18 (melebihi nilai normal yaitu ≤ 6) dan tPSA 20.23. *Ergosta-7,22-dienol* dengan Log P 6.99 (melebihi nilai normal yaitu ≤ 6) dan tPSA 20.23. Sedangkan untuk *Catechin* memiliki Log P 1.37 dan tPSA 110.37. *Quercetin* memiliki Log P 1.68 dan tPSA 131.35. *Chrysin* memiliki Log P 2.94 dan tPSA 70.76. Dan terakhir *1-naphtalenecarboxamide* memiliki Log P 4.64 dan tPSA 29.10.

Sehingga didapatkan *Catechin*, *Quercetin*, *Chrysin* dan *1-naphtalenecarboxamide* memenuhi kriteria *Veber's Rules* dan *Egan's Rules*. Pemenuhan kriteria *Veber's Rules* dan *Egan's Rules* menunjukkan sejauh mana suatu obat akan tersedia untuk jaringan target setelah pemberian obat dan molekul tersebut memiliki penyerapan obat secara oral dengan baik.

6.3 Implikasi Terhadap Bidang Kedokteran

Sebelum dilakukan uji pre klinis dan klinis perlu suatu uji ikatan *in silico* sebagai prediksi untuk dapat mengetahui target terapi secara optimal.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

1. Hasil identifikasi ditemukan 7 senyawa aktif dari jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) dapat berikatan dengan MMP 2 pada sel kanker kolorektal, yaitu : *Dehydroergosterol* (-8,8 kkal/mol), *Ergosterol* (-8,8 kkal/mol), *Ergosta-7,22-dienol* (-8,8 kkal/mol), *Catechin* (-9,1 kkal/mol), *Quercetin* (-8,6 kkal/mol), *Chrysin* (-8,5 kkal/mol), dan *1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)* (-9,1 kkal/mol).
2. Dari ke 7 senyawa aktif jamur tiram (*Pleurotus ostreatus*) terdapat 4 senyawa yang berpotensi sebagai agen terapi kanker kolorektal per oral melalui ikatan dengan MMP 2 secara *in silico*, yaitu : *Catechin*, *Quercetin*, *Chrysin* dan *1-naphtalenecarboxamide*.

7.2 Saran

Dari hasil penelitian ini disarankan dilakukannya simulasi dinamika molekul dari kompleks ikatan ligan dengan MMP 2 menggunakan aplikasi YASARA dengan mengkondisikan pH dan suhu menyerupai tubuh manusia serta dapat dilanjutkan dengan penelitian mengenai toksisitas, *in-vitro* maupun *in-vivo* untuk dikembangkan sebagai agen terapi pada kanker kolorektal.

Daftar Pustaka

Abdullah M. 2009. Jalur Inflamasi pada Karsinogenesis Kolorektal Sporadik di Indonesia: Peran Nfkb dan COX-2 Serta Hubungannya dengan Karakteristik Klinikopatologis. Jakarta : Universitas Indonesia.

Bast Jr R. C, Kufe D.W., Pollock R.E., Weichselbaum R.R., Holland J.F., Frei E., Holland-Frei. 2000. Cancer Medicine, 5th ed., B.C. Decker Inc., Hamilton.

Black, J.M, Hawks J.H.2006.Medical Surgical Nursing, Clinical Management for Positive Outcomes (8thEdition), Philadelpia. WB. Saunders Company.

Bogenrider T, Herlyn M.2003. Axis of evil: molecular mechanism of cancer metastasis. Oncogene; 22:6524-36.

Bokemeyer, C., Bondarenko, I., Makhson, A., Hartmann, J.T., Aparicio, J., de Braud, F., Donea, S., Ludwig, H., Schuch, G., Stroh, C. and Loos, A.H., 2008. Fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin with and without cetuximab in the first-line treatment of metastatic colorectal cancer. Journal of clinical oncology, 27(5): 663-671.

Chaudhary, Kamal & Mishra, Nidhi. 2016. A Review on Molecular Docking: Novel Tool for Drug Discovery. JSM Chemistry. 4. 1029.

Cheng, Zhengyuan, Manoj H. Limbu, Zhi Wang, Jing Liu, Lei Liu, Xiaoyi Zhang, Pingsheng Chen, and Bicheng Liu. 2017. MMP-2 and 9 in Chronic Kidney Disease. International Journal of Molecular Sciences 18, no. 4: 776.

Cojocaru S, Radu M, Bodea LG. Cimpanu MM, Gheorghita G, Stoian G, Dinischiotu A. 2013. Water Soluble Pleurotus ostreatus Polysaccharide Down-

Regulates the Expression of MMP-2 and MMP-9 in Caco-2 Cells. Not Bot Horti

Agrobo; 41:553-559.

Dalonso, N., Souza, R., Silveira, M.L.L., Ruzza, A.A., Wagner, T.M., Wisbeck, E.,

Furlan, S.A.2010. Appl. Biochem. Biotechnol. 160 (8) 2265–2274.

Daniel et al. 2015. Unbundling Ownership and Control. Journal of Economics & Management Strategy, Vol. 24, Issue 1, pp. 1-21, 2015.

De Barba F.F.M., Silveira M.L.L., Piloni B.U., Furlan S.A., Pinho M.S.L.2011. Int. J. Pharmacol. 7 (4) 478–484.

Dipan S, Ajay K S, Badal K D. 2018. Bioactive compounds with special references to anticancer property of oyster mushroom *Pleurotus ostreatus*. J Pharmacogn Phytochem 7(4):2694-2698.

Dipiro J T, Talbert R L, Yee G C, Wells B G, Posey L M. 2008. Pharmacotherapy Pathophysiologic Approach. 7th Edition; 2085-2331.

Djarifah, N. M. and Abbas, S.D. 2001. Budidaya Jamur Tiram. Kanisius. Yogyakarta.

Djarjah. Nunung Marlina dan Abbas Siregar Djarjah. 2001. Jamur Tiram. Yogyakarta. Penerbit Kanisius.

Edge S, Byrd D, Compton C, et al. (eds).2010. American Joint Committee on Cancer cancer staging manual. 7th ed. Springer.

Egan W.J, Merz K.M. Jr., and Baldwin J.J. 2000. Prediction of Drug Absorption Using Multivariate Statistics. J. Med. Chem, 43: 3867-3877.

Ekins, S et al. 2007. *In silico* pharmacology for drug discovery: applications to targets and beyond". Br J Pharmacol. 152 (1): hal. 21-37.

Hardjono S. 2013. „Sintesis dan Uji Aktivitas Antikanker Senyawa 1-(2-Klorobenzoiloksi)urea da 1-(4-klorobenzoiloksi) urea". Berkala Ilmiah Kimia Farmasi, 2 (1), 1.

Hideaki N., Robert V., Gillian M. 2006. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. Department of Oncology, University of Cambridge, Cambridge Institute for Medical Research, Hills Road, Cambridge, CB2 2XY, UK : Elsevier.

Islami A., Purnomo A. S. dan Sukesri. 2013. Pengaruh Komposisi Ampas Tebu dan Kayu Sengon Sebagai Media Pertumbuhan Terhadap Nutrisi Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*). Surabaya : Jurnal Sains dan Seni Pomits Vol. 2, No. 1.

Jamkhande, P.G. 2014. Antioxidant, Antimicrobial Activity and In Silico PASS prediction of *Annoma reticulate* Linn. Root. Extract. *Journal of Basic and Applied Science* 3: 140-148.

Jensen F., 2007, „Introduction to Computational Chemistry 2nd Ed". Odense, Denmark: 415-416.

Jeong Y.T., Jeong, S.C., Gu, Y.A., Islam, R., Song, C.H.2010. Food Sci. Biotechnol. 19 (2) 399–404.

Josep S, James L, Goh KL, Leung WK. Increasing incidence of colorectal cancer in Asia: implications for screening. *The Lancet Oncology*. 2005; 6(11): 871-6.

Kahari VM, Reunanen N. 2002. Matrix metalloproteinases in cancer cell invasion. In: KahariVM, Heino J, editors. *Cell invasion*. Texas: Eurekah; p.1-11.

Kitchen DB, Decornez H, Furr JR, Bajorath J. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications. *Nat Rev Drug Discov.* 2004; 3: 935-949.

Komite Penanggulangan Kanker Nasional. 2015. Panduan Penatalaksanaan Kanker Kolorektal. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.

Kumar, V., Abbas, A. K., & Aster, J. C. 2013. Colonic Polyps and Neoplastic Disease. *Robbins Basic Pathology 9th Ed.* Saunders Elsevier, 593-600.

Laronha, H., Carpinteiro, I., Portugal, J., Azul, A., Polido, M., Petrova, K. T., Salema-Oom, M., & Caldeira, J. 2020. Challenges in Matrix Metalloproteinases Inhibition. *Biomolecules*, 10(5), 717.

Ma, D., Chan, S. & Leung, C., 2011. Molecular docking for virtual screening of natural product databases. *Chemical Science*, 2(1), hal. 1656-1665.

Martschick A, Sehouli J, Patzelt A, Richter H, Jacobi U, Oskay-Ozcelik G, Sterry W, Lademann J. 2009. The pathogenetic mechanism of anthracycline-induced palmarplantar erythrodysesthesia. *Anticancer Res.* Vol 29(6):2307-13.

Meng, X.-Y. et al. (2011) 'Molecular Docking: A Powerful Approach for StructureBased Drug Discovery', *Current Computer Aided-Drug Design*, 7(2), pp. 146– 157. doi: 10.2174/157340911795677602.

Ministério da Saúde Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA), Estimativa 2014, Incidência de Câncer no Brasil, INCA, Rio de Janeiro. 2014. <http://www.inca.gov.br/estimativa/2014/estimativa-24012014.pdf> (accessed October 2020).

Mohamed, E. M., & Farghaly, F. A. (2014). Bioactive compounds of fresh and dried *Pleurotus ostreatus* mushroom. *International journal of biotechnology for wellness industries*, 3(1), 4-14.

Mukesh, B., & Rakesh, K. 2011. Molecular docking: a review. *International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy*, 2(6), 1746-1751.

National Cancer Institute.2006. Cancer of the Colon and Rectum. <http://www.cancer.gov/cancertopics/types/colon-and-rectal> (accessed November 2020).

National Center for Biotechnology Information. 2004. "PubChem Compound Summary for CID 5288596" *PubChem*, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/sc-74020>. Accessed 3 December, 2020.

Pramely, R. T., Leon, S. R. 2012. Prediction of biological Activity Spectra of a Few Phytoconsituents of *Azadirachta indica*. Juss. *Journal Biochem Tech*. 3(4): 375-379.

Pratama M. 2016. Studi Docking Molekular Senyawa Turunan Kuinolon Terhadap Reseptor Estrogen-alpha. 2: 1-7.

Rangasamy L., Geronimo B.D., Ortín I., Coderch C., Zapico J.M., Ramos A., de Pascual-Teresa B. 2019 Molecular Imaging Probes Based on Matrix Metalloproteinase Inhibitors (MMPis) *Molecules* 24:2982. doi: 10.3390/molecules24162982.

Rani A A, Simadibrata M, Syam AF, ed. 2011. Buku Ajar Gastroenterologi. Jakarta : Interna Publishing.

Riaz R., Masood N, Benish A. 2017. Red flag symptoms: detailed account of clinicopathological features in young-onset colorectal cancer. *Intestinal Research*, 15(2), 203.

Ries LAG, Melbert D, Krapcho M 2008. SEER cancer statistics review, 1975-2005. Bethesda, Maryland.

Rompis, A.Y. and Nyoman, A.D.N., 2020. Aspek Genetik Kanker Kolorektal. *Jurnal Sains dan Kesehatan*, 2(3), pp.236-245.

Said, A.H., Raufman, J.P. and Xie, G., 2014. The role of matrix metalloproteinases in colorectal cancer. *Cancers*, 6(1), pp.366-375.

Siegel L.R, and Kimberly DM. 2018. Cancer Statistics 2018, *CA Cancer J.Clin.* 67:7-30.

Slack, A. 2008. User manual. Fire Risk Management. (JULY):22–23.

Sumarsih, S. 2015. *Bisnis Bibit Jamur Tiram*. Penebar Swadaya : Jakarta.

Suriawiria, U. 2011. *Budidaya Jamur Tiram*. Kanisius. Yogyakarta.

Syahputra, G., L. Ambarsari, T.Sumaryada. 2011. Simulasi Dockin Kurkumin Enol, Bisdemetoksikurkumin dan Analognya Sebagai Inhibitor Enzim12-Lipoksigenase. *JurnalBiofisika* 10 (1): 55-67.

Tomislav, 2009. Colon cancer, adenocarcinoma. (online), <http://emedicine.medscape.com>, diakses 8 November 2020.

Van Cutsem E, Kohne C, Hitre. 2009. Cetuximab and chemotherapy as initial treatment for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 360: 1408–17.

Veber D.F., Johnson S.R., Cheng H.Y., Smith B.R., Ward K.W., and Kopple K.D.

2002. Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. *J. Med. Chem.* 45: 2615-2623.

Vogel, HG et al. D. 2013. „Drug Discovery and evaluation: Safety and pharmacokinetic assays, second edition“. Berlin, Heidelberg. Springer page. 1273-1296.

Widianti, Tri dkk. Docking dan Modifikasi Struktur Senyawa Baru Turunan Parasetamol. *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi* vol. 2 No. 1 Juni 2013. Universitas Airlangga.

Wulandari, Evi Kristin. 2010. *Karya Pascasarjana Kimia : Analisis Interaksi Histone Deacetylase (HDAC) Kelas II Homosapiens Dengan Suberoyllanilide Hydroxamide Acids (SAHA) dan Trichostantin A (TSA)*. Depok : Departemen Kimia FMIPA UI.

Yasavati, K. 2014. Farmakoterapi Mutakhir Keganasan. Jakarta. Jurnal Kedokteran Meditek Vol. 20 No. 53.

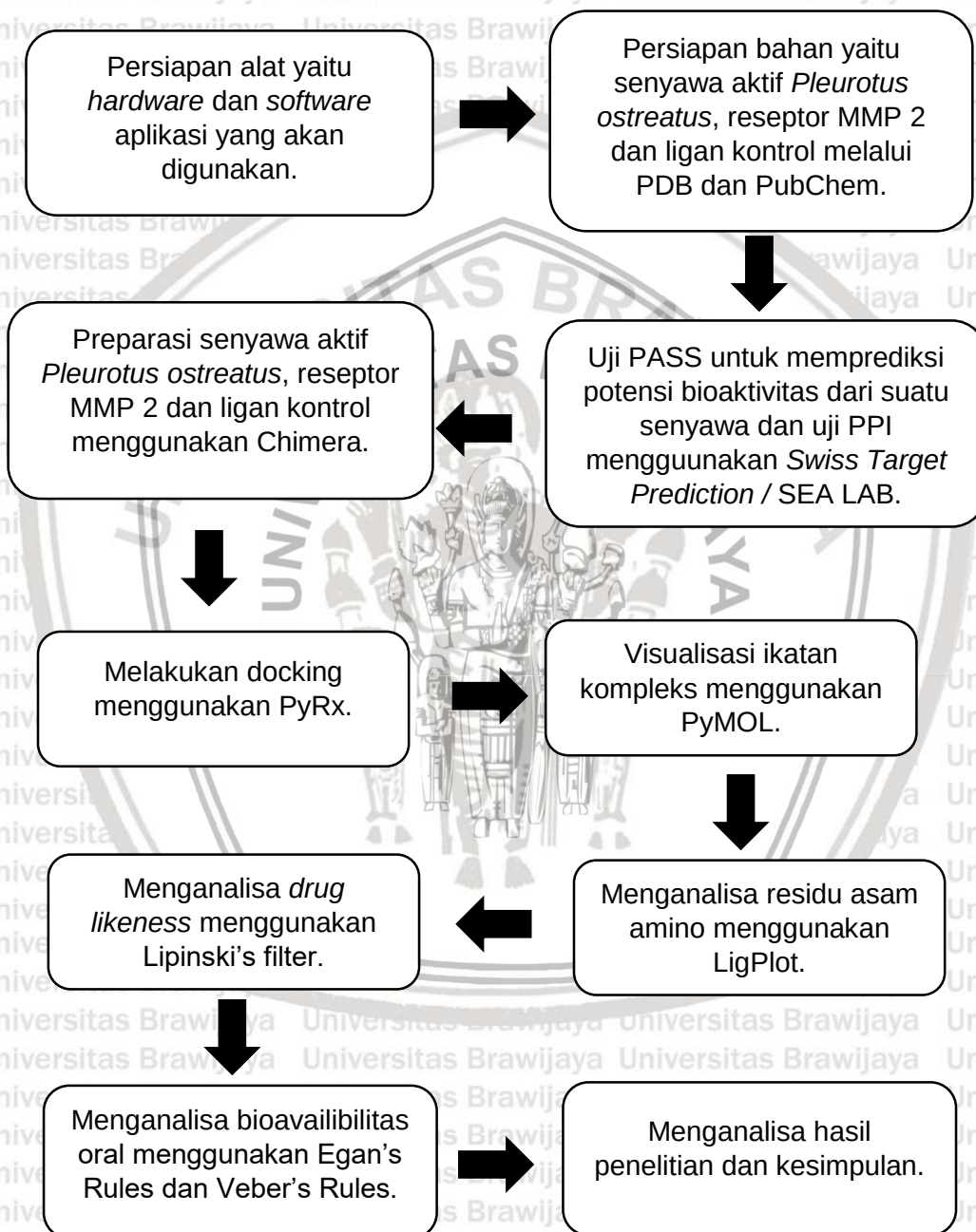
Yuansun, K. 2015. Faktor Risiko Kanker Kolorektal. Manado : Universitas Sam Ratulangi.

Yunta, M. J. (2016). Docking and ligand binding affinity: uses and pitfalls. *Am. J. Model. Optim*, 4, pp.74-114.

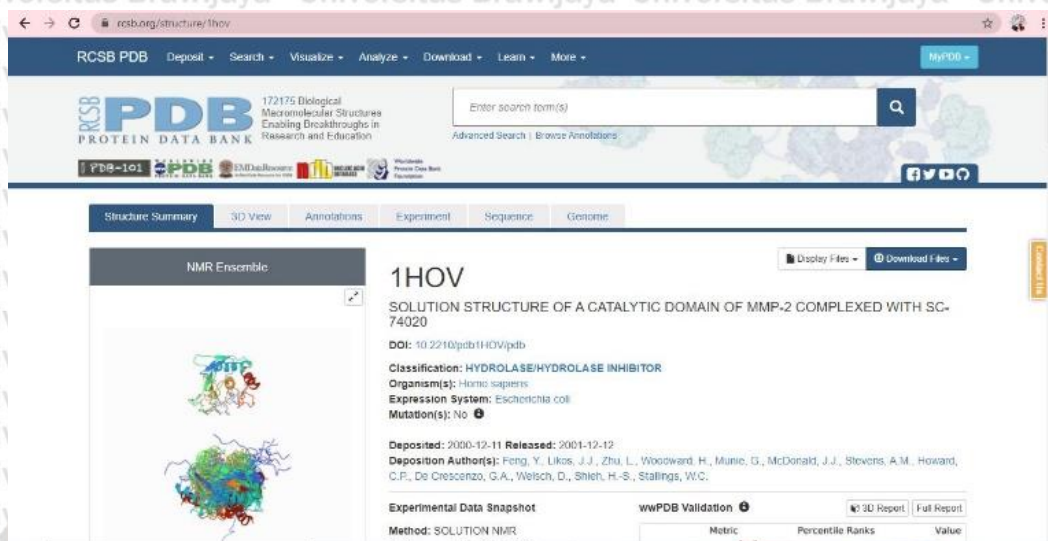
Zhan M., Zhu L., Cui S., Wang Q., Zhou T, Shen H.2011 *Int. J. Biol. Macromol.* 48 (1) 5–12.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Bagan Kerja

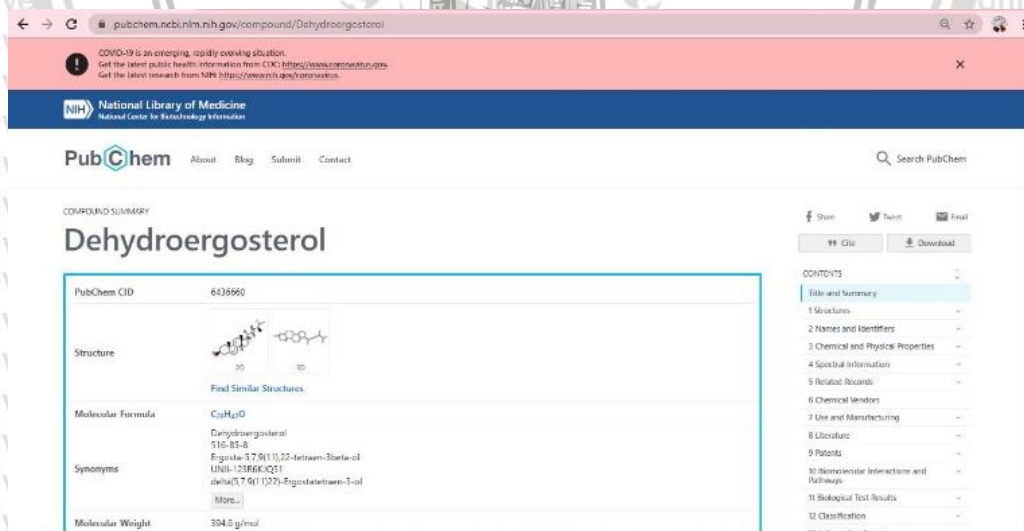


Lampiran 2. Tampilan Situs *Protein Data Bank* (PDB).



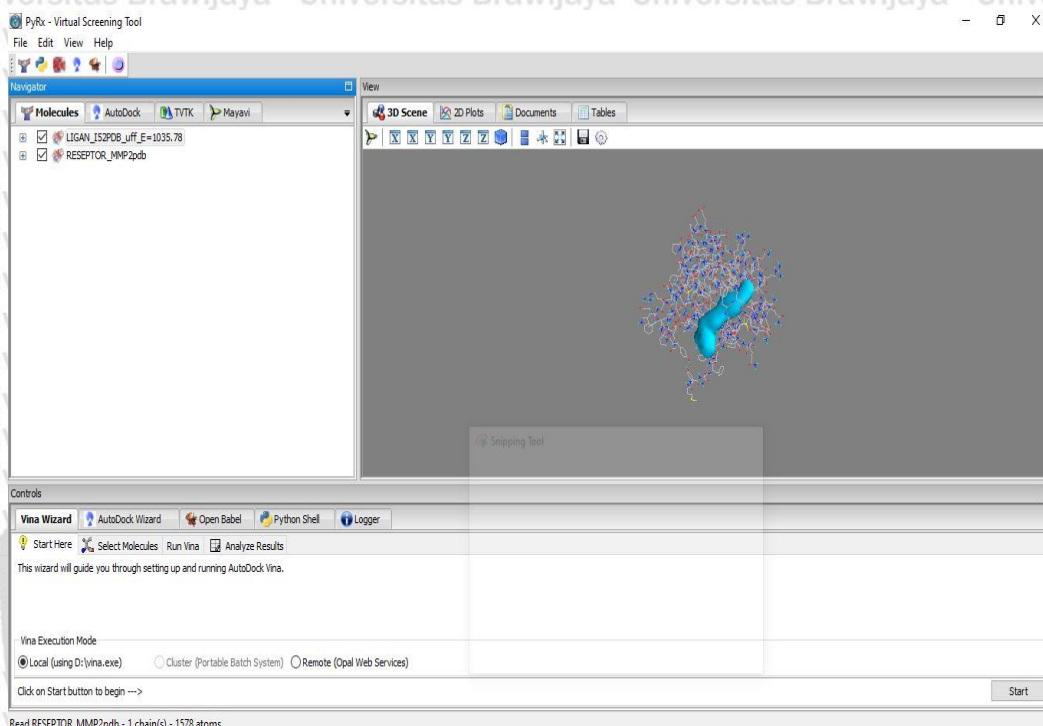
The screenshot displays the RCSB PDB website interface. The top navigation bar includes links for Deposit, Search, Visualize, Analyze, Download, Learn, and More. The main header features the PDB logo and a search bar. Below the header, the entry 1HOV is highlighted. The left sidebar shows the NMR Ensemble structure. The main content area provides detailed information about the entry, including its classification as a hydrolase inhibitor, the organism (Homo sapiens), and the expression system (Escherichia coli). The entry was deposited on 2000-12-11 and released on 2001-12-12. The deposition authors are listed as Feng, Y., Likos, J.J., Zhu, L., Woodward, H., Munie, G., McDonald, J.J., Stevens, A.M., Howard, C.P., De Crescenzo, G.A., Welsch, D., Shieh, H.-S., and Stallings, W.C. The experimental data snapshot shows the method as SOLUTION NMR. The right sidebar includes a wwPDB Validation section with links to 3D Report and Full Report.

Lampiran 3. Tampilan Situs PubChem.

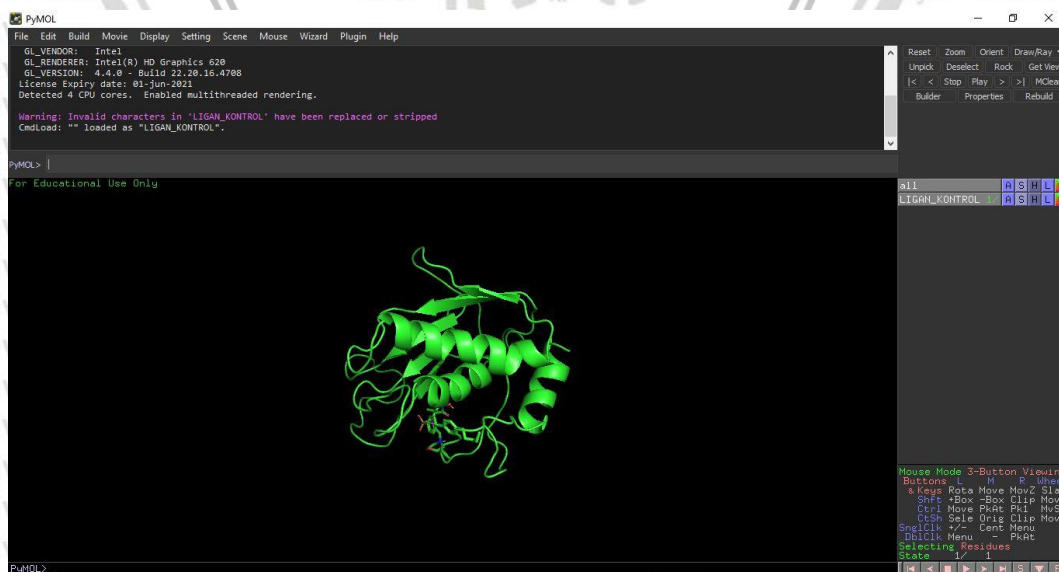


The screenshot displays the PubChem website interface. The top navigation bar includes links for About, Blog, Submit, and Contact. The main header features the PubChem logo and a search bar. Below the header, the entry for Dehydroergosterol is highlighted. The left sidebar shows the Compound Summary. The main content area provides detailed information about the compound, including its PubChem CID (6438660), molecular formula (C₂₈H₄₄O), and synonyms (Ergosta-5,7,9(11),22-tetram-3beta-ol; UNK-1258641Q1; daltol(5,7,9(11),22)-Ergosteratrien-1-ol). The molecular weight is listed as 384.6 g/mol. The right sidebar includes a table of contents with links to various sections such as Structures, Names and Identifiers, Chemical and Physical Properties, Spectral Information, Related Records, Chemical Vendors, Use and Manufacturing, Literature, Patents, Biomolecular Interactions and Pathways, Biological Test Results, Classification, and Information Sources.

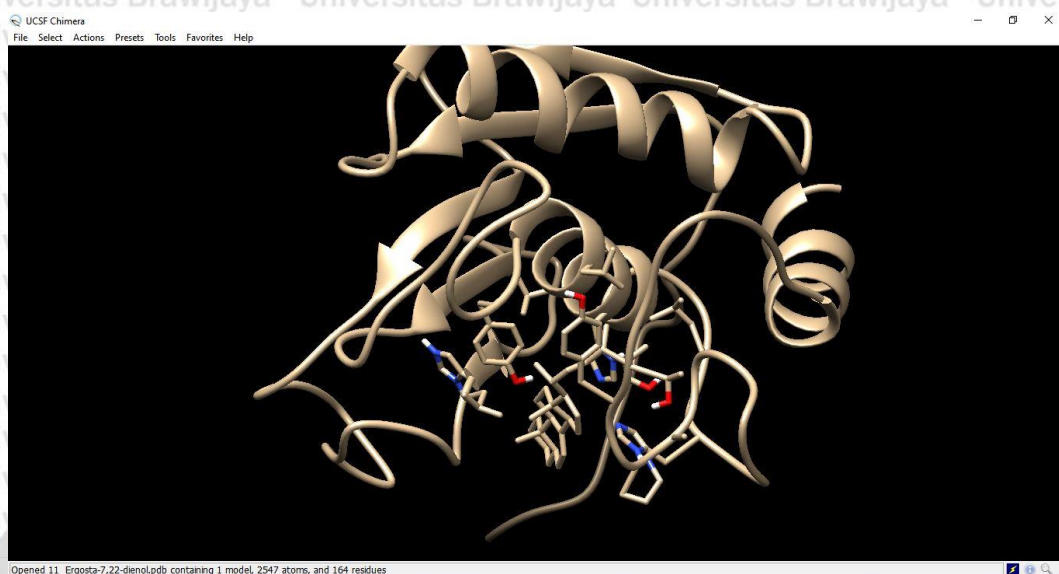
Lampiran 4. Tampilan aplikasi PyRx untuk docking ligan-protein.



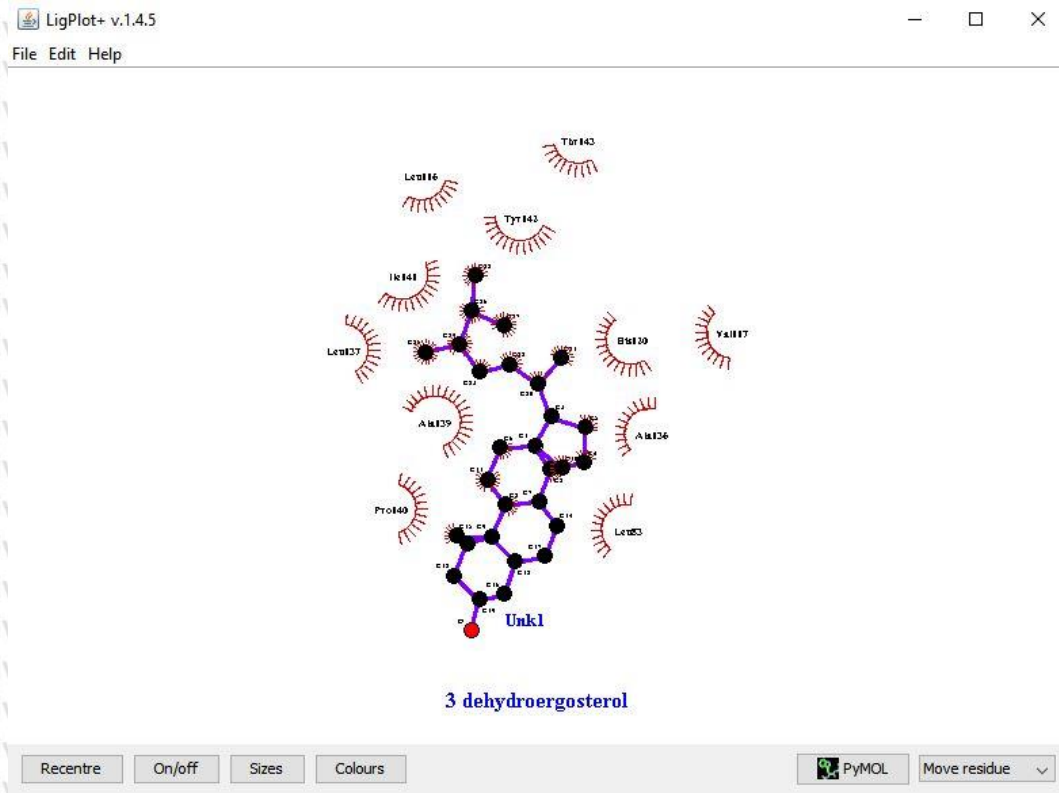
Lampiran 5. Tampilan aplikasi PyMOL untuk visualisasi molekul.



Lampiran 6. Tampilan aplikasi Chimera untuk preparasi molekul.



Lampiran 7. Tampilan aplikasi LigPlot untuk identifikasi residu asam amino.



Lampiran 8. Tampilan server Lipinski untuk menganalisa *drug likeness*.

Supercomputing Facility for Bioinformatics & Computational Biology, IIT Delhi

Home | Group | Publications | Resources | Webmail | Contact Us

Lipinski Rule of Five

Lipinski rule of 5 helps in distinguishing between drug like and non drug like molecules. It predicts high probability of success or failure due to drug likeness for molecules complying with 2 or more of the following rules

- Molecular mass less than 500 Dalton
- High lipophilicity (expressed as LogP less than 5)
- Less than 5 hydrogen bond donors
- Less than 10 hydrogen bond acceptors
- Molar refractivity should be between 40-130

These filters help in early preclinical development and could help avoid costly late-stage preclinical and clinical failures. To draw a chemical structure [Click Here](#) and follow the instructions given.

Step 1: Input Drug File.

Input PDB file No file chosen

Step 2 : Input pH Value

pH Value [Value ranges from 0.0 to 14.0]

Step 3: Click on 'Submit' to submit your job

Result
mass: 312.000000
hydrogen bond donor: 5
hydrogen bond acceptors: 6
LOGP: -0.053101
Molar Refractivity: 77.145782

How to Use the Tool

OPTION 1:-

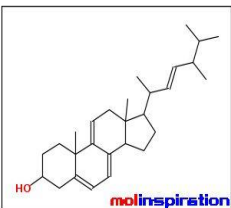
- The input File should be in the following formats[*.*pdb, *.mol, *.mol2, *.xyz, *.sdf, *.smi]
- The input file name should not contain whitespace(s).
- Browse and Upload the file.
- Click on Submit.

Lampiran 9. Tampilan server Molinspiration untuk menganalisa bioavailabilitas oral.

https://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties

molinspiration Calculation of Molecular Properties

originalSMILES CC(C)(C)C=CC(C)C1CCC2C1(CC=C3C2=CC=C4C3(CCC(C4)O)C)C
 miSMILES CC(C)(C)C=CC(C)C1CCC2C1(CC=C3C2=CC=C4C3(CCC(C4)O)C)C
 17-(5,6-Dimethylhept-3-en-2-yl)-10,13-dimethyl-2,3,4,12,14,15,16,17-octahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-3-ol



Molinspiration_property_engine v2018.10

miLogP	7.00
TPSA	20.23
atoms	29
MW	394.64
nOH	1
nOH/H	1
nviolations	1
nroth	4
volume	421.10

[Get data as text](#) (for copy / paste).

[Get 3D geometry](#) BETA

This was request 2 out of 1000 available this month for your site 125.164.225.197
 With technology from Molinspiration you can easily setup similar service also directly on your intranet.
 Comments or questions ? See our [FAQ](#) and do not hesitate to provide feedback or contact us by email !

[New molecule](#) [Predict bioactivity](#) [About properties](#) [MyMolecules](#) [Molinspiration home](#)

©2021 Molinspiration Cheminformatics [Terms of service](#)

Lampiran 10. Hasil docking *dehydroergosterol* dengan MMP 2.

USED NAME	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
<i>dehydroergosterol</i>	-8,8	0	0
<i>dehydroergosterol</i>	-8,5	8,943	3,11
<i>dehydroergosterol</i>	-8,2	8,339	3,595
<i>dehydroergosterol</i>	-7,9	2,988	1,59
<i>dehydroergosterol</i>	-7,3	3,307	1,758
<i>dehydroergosterol</i>	-6,8	8,356	3,366
<i>dehydroergosterol</i>	-6,8	8,618	3,338
<i>dehydroergosterol</i>	-6,6	9,239	3,412
<i>dehydroergosterol</i>	-5,8	8,957	3,163

Lampiran 11. Hasil docking *ergosterol* dengan MMP 2.

USED NAME	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
<i>Ergosterol</i>	-8,8	0	0
<i>Ergosterol</i>	-8,3	8,255	3,378
<i>Ergosterol</i>	-7,9	3,145	1,614
<i>Ergosterol</i>	-7,8	2,829	1,481
<i>Ergosterol</i>	-7,2	8,721	3,524
<i>Ergosterol</i>	-6,8	9,018	3,371
<i>Ergosterol</i>	-6,7	8,647	3,349
<i>Ergosterol</i>	-6,2	5,96	2,994
<i>Ergosterol</i>	-6,1	8,44	3,85

Lampiran 12. Hasil docking *Ergosta-7,22-dienol* dengan MMP 2.

USED NAME	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
<i>Ergosta-7,22-dienol</i>	-8,8	0	0
<i>Ergosta-7,22-dienol</i>	-8,4	3,163	1,855
<i>Ergosta-7,22-dienol</i>	-8,3	3,861	2,107
<i>Ergosta-7,22-dienol</i>	-7,9	1,308	1,047
<i>Ergosta-7,22-dienol</i>	-7,4	8,784	2,646
<i>Ergosta-7,22-dienol</i>	-6,9	2,66	1,285
<i>Ergosta-7,22-dienol</i>	-6,7	8,127	2,753

Lampiran 13. Hasil docking *catechin* dengan MMP 2

USED NAME	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
<i>Catechin</i>	-9,1	0	0
<i>Catechin</i>	-8,7	7,016	1,789
<i>Catechin</i>	-8,5	4,457	2,434
<i>Catechin</i>	-8,5	7,394	2,167
<i>Catechin</i>	-7,3	9,384	4,049
<i>Catechin</i>	-7,2	5,704	3,183
<i>Catechin</i>	-7,2	6,576	1,225
<i>Catechin</i>	-7,2	7,991	2,314
<i>Catechin</i>	-7,1	2,696	1,336

Lampiran 14. Hasil docking *Quercetin* dengan MMP 2.

USED NAME	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
<i>Quercetin</i>	-8,6	0	0
<i>Quercetin</i>	-8,6	8,461	2,417
<i>Quercetin</i>	-8,6	4,234	2,255
<i>Quercetin</i>	-8,5	6,752	1,496
<i>Quercetin</i>	-8,5	6,727	1,463
<i>Quercetin</i>	-8,5	0,5	0,5
<i>Quercetin</i>	-8,4	6,832	1,578
<i>Quercetin</i>	-8,4	3,554	2,125
<i>Quercetin</i>	-8,3	6,752	1,516

Lampiran 15. Hasil docking *Chrysin* dengan MMP 2.

USED NAME	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
<i>Chrysin</i>	-8,5	0	0
<i>Chrysin</i>	-8,5	1,112	0,035
<i>Chrysin</i>	-8,4	2,761	1,289
<i>Chrysin</i>	-8,3	4,666	2,368
<i>Chrysin</i>	-8,3	4,545	2,353
<i>Chrysin</i>	-8,2	0,373	0,373
<i>Chrysin</i>	-8	6,634	2,665
<i>Chrysin</i>	-7,5	2,963	1,59
<i>Chrysin</i>	-7,5	9,791	5,775

Lampiran 16. Hasil docking 1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl) dengan MMP 2.

USED NAME	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)	-9,1	0	0
1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)	-8,6	7,147	3,068
1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)	-8	7,317	2,783
1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)	-7,9	7,593	4,322
1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)	-7,7	2,843	1,239
1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)	-7,6	6,998	3,36
1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)	-7,5	5,294	3,817
1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)	-7,5	3,455	2,328
1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)	-7,5	5,442	4,348

Lampiran 17. Hasil docking SC-74020 (Ligan kontrol) dengan MMP 2.

USED NAME	Binding Affinity	rmsd/ub	rmsd/lb
SC-74020	-8,3	0	0
SC-74020	-8,2	2,623	1,7
SC-74020	-8,2	2,733	1,483
SC-74020	-7,8	3,857	1,684
SC-74020	-6,9	3,778	1,823
SC-74020	-6,5	3,393	1,847
SC-74020	-6,5	4,004	2,043
SC-74020	-6,5	4,162	2,051
SC-74020	-6,2	3,89	2,26

Lampiran 18. Hasil docking screening 40 senyawa *Pleurotus ostreatus* dengan MMP 2.

USED NAME	Binding A	rmsd/ub	rmsd/lb	USED NAME	Binding A	rmsd/ub	rmsd/lb
1. Alpha-glucans	-5,8	0	0	2. Beta-glucans	-7,3	0	0
	-5,4	2,866	1,149		-7,2	8,147	1,865
	-5,2	4,048	2,289		-7,1	3,585	2,333
	-5,1	3,689	1,466		-6,6	7,846	2,249
	-5,1	3,942	2,136		-6,4	2,635	1,796
	-5	3,08	1,959		-6,4	7,719	1,969
	-5	2,196	1,426		-6,3	8,102	2,093
	-4,9	3,976	1,744		-6,3	2,396	1,273
	-4,9	5,042	2,329		-6,3	4,096	1,896
3. dehydroergosterol	-8,8	0	0	4. ergosta-5,7,22-trien-3-ol, (3 β ,22E)	-7,9	0	0
	-8,5	8,943	3,11		-7,9	8,481	3,156
	-8,2	8,339	3,595		-7,1	1,924	1,206
	-7,9	2,988	1,59		-7	8,563	3,126
	-7,3	3,307	1,758		-5,9	3,479	1,726
	-6,8	8,356	3,366		-5,6	8,484	3,216
	-6,8	8,618	3,338		-5,5	3,318	1,59
	-6,6	9,239	3,412		-5,1	2,857	1,509
	-5,8	8,957	3,163		-4,9	4,835	2,81
5. Resveratrol	-7,9	2,014	0,073	6. Lovastatin	-7	0	0
	-7,9	2,332	0,059		-7	1,621	1,019
	-7,6	7,354	1,881		-6,7	6,414	1,722
	-7,6	7,774	1,487		-6,5	2,514	1,683
	-7,5	7,86	1,498		-6,4	6,412	2,066
	-7,5	7,609	1,922		-6,3	4,758	2,127
	-7,5	8,932	3,534		-6,2	2,774	1,933
	-7,5	9,169	3,546		-6	6,158	2,785
					-5,2	2,885	1,892
7. Ergosterol	-8,8	0	0	8. Ferulic acid	-7	0	0
	-8,3	8,255	3,378		-6,4	1,81	1,426
	-7,9	3,145	1,614		-6,4	2,98	1,735
	-7,8	2,829	1,481		-6	2,584	1,489
	-7,2	8,721	3,524		-6	6,05	2,234
	-6,8	9,018	3,371		-5,9	7,094	2,144
	-6,7	8,647	3,349		-5,9	5,32	3,575
	-6,2	5,96	2,994		-5,7	5,161	3,551
	-6,1	8,44	3,85		-5,7	6,012	2,18
USED NAME	Binding A	rmsd/ub	rmsd/lb	USED NAME	Binding Affir	rmsd/ub	rmsd/lb
9. Linoleic acid	-6,5	0	0	10. Beta-carotene	hasil tidak teridentifikasi		
	-6,5	2,275	1,128				
	-6,2	6,751	2,59				
	-6,2	7,564	2,546				
	-6,2	7,888	3,948				
	-6,1	3,162	1,674				
	-6	3,529	1,907				
	-5,7	2,698	1,157				
	-5,7	7,394	4,38				
11. Ergosta-7,22-dienol	-8,8	0	0	12. α -tocopherol	-7,7	0	0
	-8,4	3,163	1,855		-7,6	2,306	1,513
	-8,3	3,861	2,107		-7,2	2,145	1,283
	-7,9	1,308	1,047		-7,1	2,666	1,476
	-7,4	8,784	2,646		-7	4,553	1,592
	-6,9	2,66	1,285		-6,9	3,367	1,626
	-6,7	8,127	2,753		-6,7	8,778	2,447
					-6,7	8,23	2,767
					-6,4	4,511	2,338

13. phenol,2,4-bis(1,1-di	hasil tidak dapat teridentifikasi			14. catechin	-9,1	0	0
					-8,7	7,016	1,789
					-8,5	4,457	2,434
					-8,5	7,394	2,167
					-7,3	9,384	4,049
					-7,2	5,704	3,183
					-7,2	6,576	1,225
					-7,2	7,991	2,314
					-7,1	2,696	1,336
15. Quercetin	-8,6	0	0	16. Chrysin	-8,5	0	0
	-8,6	8,461	2,417		-8,5	1,112	0,035
	-8,6	4,234	2,255		-8,4	2,761	1,289
	-8,5	6,752	1,496		-8,3	4,666	2,368
	-8,5	6,727	1,463		-8,3	4,545	2,353
	-8,5	0,5	0,5		-8,2	0,373	0,373
	-8,4	6,832	1,578		-8	6,634	2,665
	-8,4	3,554	2,125		-7,5	2,963	1,59
	-8,3	6,752	1,516		-7,5	9,791	5,775
17. 2-decenedioic acid	-6,3	0	0	18. 1-naphthalene	-9,1	0	0
	-6,3	2,843	2,487		-8,6	7,147	3,068
	-6	5,35	2,55		-8	7,317	2,783
	-5,9	1,759	1,351		-7,9	7,593	4,322
	-5,9	4,777	1,259		-7,7	2,843	1,239
	-5,8	4,638	1,076		-7,6	6,998	3,36
	-5,6	6,019	2,681		-7,5	5,294	3,817
	-5,6	3,45	2,829		-7,5	3,455	2,328
	-5,2	3,388	2,618		-7,5	5,442	4,348
19.N-methylmaleamic acid	-5	0	0	20. benzeneacetic acid	-6,5	0	0
	-4,9	1,623	1,271		-6	5,095	3,768
	-4,9	4,559	2,97		-5,9	4,979	3,782
	-4,8	2,611	2,113		-5,9	1,821	1,348
	-4,8	2,931	2,399		-5,8	4,108	3,038
	-4,8	4,564	1,981		-5,6	4,655	3,344
	-4,7	2,351	1,9		-5,5	4,604	3,134
	-4,7	3,819	2,1		-5,4	5,161	4,152
	-4,7	4,268	3,341		-5,4	2,83	1,694
21. Concanavalin A	-6,7	0	0	22. p-Hydroxybenzoic acid	-6,2	0	0
	-6,6	4,947	3,144		-6,2	1,533	0,027
	-6,6	5,449	2,159		-5,8	4,448	1,101
	-6,4	4,043	2,673		-5,7	3,492	2,091
	-6,4	1,92	1,803		-5,7	4,216	1,218
	-6,4	3,991	2,649		-5,5	4,22	3,064
	-6,4	6,131	2,562		-5,5	3,939	3,06
	-6,3	7,617	5,525		-5,5	4,276	1,108
	-6,2	6,446	3,073		-5,4	3,157	2,378
23. Protocatechuic acid	-6,5	0	0	24. Syringic acid	-6,1	0	0
	-6,3	4,289	1,268		-6,1	3,472	0,041
	-6,2	4,583	1,174		-5,7	4,461	1,364
	-6	4,07	2,502		-5,7	3,993	1,356
	-5,7	2,692	2,148		-5,7	1,945	1,506
	-5,6	5,749	3,033		-5,5	4,508	2,175
	-5,6	2,76	1,661		-5,4	4,723	1,34
	-5,6	4,418	2,651		-5,4	5,647	2,19
	-5,5	4,751	1,531		-5,4	4,345	2,14

25. Vanillic acid	-6,5	0	0	26. Caffeic acid	-7	0	0
	-6,1	4,975	1,705		-6,9	5,8	1,648
	-6,1	3,916	1,642		-6,3	2,514	1,87
	-5,9	5,002	2,362		-6,3	6,316	2,011
	-5,8	3,377	2,206		-6,2	2,591	1,88
	-5,7	4,513	2,464		-6,2	5,861	1,493
	-5,7	3,78	3,011		-6,1	6,259	2,96
	-5,7	3,975	1,599		-6,1	1,689	1,426
	-5,6	3,754	2,74		-5,9	4,278	3,015
27. Cinnamic acid	-6,7	0	0	28. Syringaldazine	-7,1	0	0
	-6,7	1,464	0,135		-6,9	3,238	2,22
	-6,1	6,094	4,485		-6,9	7,21	2,349
	-6,1	2,294	1,32		-6,4	6,963	2,042
	-6	5,636	4,394		-6,3	6,993	2,232
	-6	6,769	5,107		-6,2	3,249	2,34
	-6	6,986	5,364		-6	6,811	2,132
	-5,7	5,548	2,841		-6	7,191	1,544
	-5,4	5,17	3,336		-5,9	7,547	2,51
29. O-dianisidine	-7,4	0	0	30. 2,6-dimethoxy	-6	0	0
	-7,4	6,947	0,028		-6	3,899	0,048
	-6,9	7,564	2,931		-5,9	1,776	1,405
	-6,9	5,343	2,944		-5,8	1,332	1,177
	-6,8	5,397	2,939		-5,5	1,587	1,263
	-6,8	6,253	3,605		-5,3	4,004	1,912
	-6,7	8,2	3,535		-5,2	2,929	1,823
	-6,4	3,476	2,083		-5,2	2,393	1,724
	-6,3	7,925	4,726		-5,2	4,588	1,734
31. Cibacron blue affn	-7	0	0	32. 1-octen-3-ol	-5,3	0	0
	-7	8,096	2,455		-4,9	1,669	1,389
	-6,8	2,472	1,908		-4,9	4,369	2,348
	-6,6	8,407	2,431		-4,8	5,199	2,291
	-6,4	4,9	2,53		-4,8	3,993	2,491
	-6,3	7,764	2,287		-4,7	5,199	1,61
	-6,2	6,805	2,826		-4,7	2,254	1,472
	-6	4,238	2,494		-4,5	5,168	2,087
	-5,9	7,197	2,761		-4,5	2,984	2,35
33. Benzoic acid	hasil tidak dapat teridentifikasi			34. 3-octanone	-5	0	0
					-5	4,927	2,05
					-5	1,892	1,205
					-4,9	4,64	1,29
					-4,7	4,413	2,884
					-4,6	4,967	2,135
					-4,6	4,706	2,645
					-4,6	1,991	1,531
					-4,5	4,641	1,794

35. 14, 17-Octadecadien	-6,7	0	0	36. N-8-Guanidinos	-5,8	0	0
	-6,6	8,091	2,873		-5,5	2,538	1,82
	-6,5	2,389	1,108		-5,4	3,013	2,266
	-6,4	2,657	1,325		-5,3	6,193	1,568
	-6,3	8,597	3,219		-5,2	6,794	1,442
	-6,3	3,309	2,13		-5,2	7,103	1,924
	-6,1	3,025	2,476		-5	6,89	2,041
	-6,1	2,93	2,177		-4,8	8,184	3,38
	-6	5,467	2,404		-4,8	3,207	2,358
37. p-anisaldehyde (4me	-6,1	0	0	38. Gallic acid	-6,2	0	0
	-6,1	4,212	1,214		-6,2	2,405	0,02
	-6	4,426	1,192		-6,1	3,554	1,994
	-5,8	1,669	1,378		-6,1	3,355	1,976
	-5,6	4,678	1,493		-6	4,117	1,149
	-5,6	2,283	1,41		-6	4,631	1,185
	-5,4	4,323	1,166		-5,9	3,846	2,215
	-5,4	4,164	2,118		-5,8	4,198	1,315
	-5,3	6,38	3,273		-5,8	5,393	2,883
39. Homogentisic acid	-6,6	0	0	40. Rutin	-7,3	0	0
	-6,6	5,35	1,882		-5,9	2,054	1,034
	-6,3	2,529	1,333		-5,8	2,268	1,403
	-6,2	5,085	2,179		-5,7	4,365	1,68
	-6,1	5,457	2,931		-5,7	4,576	1,92
	-5,9	4,246	2,108		-5,6	8,702	2,192
	-5,8	4,629	2,032		-4,4	6,283	2,652
	-5,7	4,24	2,866				
	-5,6	7,135	4,188				

Lampiran 19 Hasil Uji *Swiss Target Prediction* atau *SEA LAB* (*Similarity ensemble approach*) dari Senyawa Aktif Jamur Tiram

1. Hasil uji *Swiss Target Prediction* dehydroergosterol

Target	Common name	Uniprot ID	Target Class
Dual specificity phosphatase Cdc25A	CDC25A	P30304	Phosphatase
Androgen Receptor	AR	P10275	Nuclear receptor
Estrogen receptor alpha	ESR1	P03372	Nuclear receptor
Estrogen receptor beta	ESR2	Q92731	Nuclear receptor
Vitamin D receptor	VDR	P11473	Nuclear receptor

Glycine receptor subunit alpha-1	GLRA1	P23415	Ligand-gated ion channel
Protein-tyrosine phosphatase 1B	PTPN1	P18031	Phosphatase
LXR-alpha	NR1H3	Q13133	Nuclear receptor
Cytochrome P450 19A1	CYP19A1	P11511	Cytochrome P450
Adenosine A2a receptor	ADORA2A	P29274	Family A G protein-coupled receptor
Adenosine A3 receptor	ADORA3	P0DMS8	Family A G protein-coupled receptor
C-C chemokine receptor type 1	CCR1	P32246	Family A G protein-coupled receptor
Norepinephrine transporter	SLC6A2	P23975	Electrochemical transporter
RAS guanyl releasing protein 3	RASGRP3	Q8IV61	Other cytosolic protein
Thromboxane A2 receptor	TBXA2R	P21731	Family A G protein-coupled receptor
Beta-secretase 1	BACE1	P56817	Protease
Muscarinic acetylcholine receptor M4	CHRM4	P08173	Family A G protein-coupled receptor
Niemann-Pick C1-like protein 1	NPC1L1	Q9UHC9	Other membrane protein
Protein Mdm4	MDM4	O15151	Unclassified protein
Dual specificity phosphatase Cdc25B	CDC25B	P30305	Phosphatase
p53-binding protein Mdm-2	MDM2	Q00987	Other nuclear protein
Vanilloid receptor	TRPV1	Q8NER1	Voltage-gated ion channel
Acetyl-CoA carboxylase 2	ACACB	O00763	Ligase
Protein kinase C alpha	PRKCA	P17252	Kinase
Carbonic anhydrase II	CA2	P00918	Lyase
Carbonic anhydrase I	CA1	P00915	Lyase
Adrenergic receptor alpha-2	ADRA2C	P18825	Family A G protein-coupled receptor
Cytochrome P450 51 (by homology)	CYP51A1	Q16850	Cytochrome P450
HMG-CoA reductase	HMGCR	P04035	Oxidoreductase
Vascular endothelial growth factor receptor 2	KDR	P35968	Kinase

2. Hasil uji Swiss Target Prediction Ergosterol

Target	Common name	Uniprot ID	Target Class	Probability*
Dual specificity phosphatase Cdc25A	CDC25A	P30304	Phosphatase	0,13075915
Androgen Receptor	AR	P10275	Nuclear receptor	0,1219864
Protein-tyrosine phosphatase 1B	PTPN1	P18031	Phosphatase	0,09566349
Cytochrome P450 19A1	CYP19A1	P11511	Cytochrome P450	0,09566349

3. Hasil uji Swiss Target Prediction Ergosta-7,22-dienol

Target	Common name	Uniprot ID	Target Class	Probability*
Protein-tyrosine phosphatase 1B	PTPN1	P18031	Phosphatase	0,253546
Androgen Receptor	AR	P10275	Nuclear receptor	0,22727
Cytochrome P450 19A1	CYP19A1	P11511	Cytochrome P450	0,130759
Muscarinic acetylcholine receptor M2	CHRM2	P08172	Family A G protein-coupled receptor	0,113207
Norepinephrine transporter	SLC6A2	P23975	Electrochemical transporter	0,104441
Estrogen receptor alpha	ESR1	P03372	Nuclear receptor	0,095663

4. Hasil uji SEA LAB catechin

TARGET KEY	TARGET NAME	DESCRIPTION	MaxTC
CAH6_HUMAN	CA6	Carbonic anhydrase 6	1.00
CAH7_HUMAN	CA7	Carbonic anhydrase 7	1.00
CAH5A_HUMAN	CA5A	Carbonic anhydrase 5A, mitochondrial	1.00
PPBT_HUMAN	ALPL	Alkaline phosphatase, tissue-nonspecific isozyme	1.00
CAH12_HUMAN	CA12	Carbonic anhydrase 12	1.00
CAH9_HUMAN	CA9	Carbonic anhydrase 9	1.00
CAH1_HUMAN	CA1	Carbonic anhydrase 1	1.00
CAH2_HUMAN	CA2	Carbonic anhydrase 2	1.00
VEGFA_HUMAN	VEGFA	Vascular endothelial growth factor A	0.56

5. Hasil uji Swiss Target Prediction Quercetin

Target	Common name	Uniprot ID	Target Class	Probability *
NADPH oxidase 4	NOX4	Q9NPH5	Enzyme	1
Vasopressin V2 receptor	AVPR2	P30518	Family A G protein-coupled receptor	1
Aldose reductase	AKR1B1	P15121	Enzyme	1
Xanthine dehydrogenase	XDH	P47989	Oxidoreductase	1
Monoamine oxidase A	MAOA	P21397	Oxidoreductase	1
Insulin-like growth factor I receptor	IGF1R	P08069	Kinase	1
Tyrosine-protein kinase receptor FLT3	FLT3	P36888	Kinase	1
Cytochrome P450 19A1	CYP19A1	P11511	Cytochrome P450	1
Epidermal growth factor receptor erbB1	EGFR	P00533	Kinase	1
Thrombin	F2	P00734	Protease	1
Carbonic anhydrase II	CA2	P00918	Lyase	1
Serine/threonine-protein kinase PIM1	PIM1	P11309	Kinase	1
Arachidonate 5-lipoxygenase	ALOX5	P09917	Oxidoreductase	1
Serine/threonine-protein kinase Aurora-B	AURKB	Q96GD4	Kinase	1
Dopamine D4 receptor	DRD4	P21917	Family A G protein-coupled receptor	1
Adenosine A1 receptor (by homology)	ADORA1	P30542	Family A G protein-coupled receptor	1
Carbonic anhydrase VII	CA7	P43166	Lyase	1
Glyoxalase I	GLO1	Q04760	Enzyme	1
Myeloperoxidase	MPO	P05164	Enzyme	1
PI3-kinase p85-alpha subunit	PIK3R1	P27986	Enzyme	1
Matrix metalloproteinase 2	MMP2	P08253	Protease	1

6. Hasil uji Swiss Target Prediction Chrysin

Target	Common name	Uniprot ID	Target Class	Probability *
Aldose reductase	AKR1B1	P15121	Enzyme	1
Cyclin-dependent kinase 5/CDK5 activator 1	CDK5R1 CDK5	Q15078 Q00535	Kinase	1
Xanthine dehydrogenase	XDH	P47989	Oxidoreductase	1
Cytochrome P450 19A1	CYP19A1	P11511	Cytochrome P450	1
Carbonic anhydrase II	CA2	P00918	Lyase	1
Cyclin-dependent kinase 1/cyclin B	CCNB3 CDK1 CCNB1 CCNB2	Q8WWL7 P06493 P14635 O95067	Other cytosolic protein	1
Carbonic anhydrase VII	CA7	P43166	Lyase	1
Cyclin-dependent kinase 6	CDK6	Q00534	Kinase	1
Carbonic anhydrase I	CA1	P00915	Lyase	1
Carbonic anhydrase XII	CA12	O43570	Lyase	1
Carbonic anhydrase IX	CA9	Q16790	Lyase	1
Carbonic anhydrase IV	CA4	P22748	Lyase	1
P-glycoprotein 1	ABCB1	P08183	Primary active transporter	1
Cytochrome P450 1B1	CYP1B1	Q16678	Cytochrome P450	1
ATP-binding cassette sub-family G member 2	ABCG2	Q9UNQ0	Primary active transporter	1
Carbonyl reductase [NADPH] 1	CBR1	P16152	Enzyme	1
Tankyrase-2	TNKS2	Q9H2K2	Enzyme	0,56779
Tankyrase-1	TNKS	O95271	Enzyme	0,56779
Arachidonate 15-lipoxygenase	ALOX15	P16050	Enzyme	0,52833
Arachidonate 12-lipoxygenase	ALOX12	P18054	Enzyme	0,52833
Estrogen receptor alpha	ESR1	P03372	Nuclear receptor	0,41844
Matrix metalloproteinase 2	MMP2	P08253	Protease	0,12775

7. Hasil uji Swiss Target Prediction 1-naphthalenecarboxamide, N-(3-chlorophenyl)

Target	Common name	Uniprot ID	Target Class	Probability*
Fatty acid desaturase 1	FADS1	O60427	Enzyme	0,1661
Trace amine-associated receptor 1 (by homology)	TAAR1	Q96RJ0	Family A G protein-coupled receptor	0,14973
Monoamine oxidase B	MAOB	P27338	Oxidoreductase	0,11697
Metabotropic glutamate receptor 5	GRM5	P41594	Family C G protein-coupled receptor	0,10877
Monoamine oxidase A	MAOA	P21397	Oxidoreductase	0,10877
Epidermal growth factor receptor erbB1	EGFR	P00533	Kinase	0,10877
Histone deacetylase 1	HDAC1	Q13547	Eraser	0,10877
Receptor protein-tyrosine kinase erbB-2	ERBB2	P04626	Kinase	0,10877
MAP kinase p38 alpha	MAPK14	Q16539	Kinase	0,10058
Trypsin I	PRSS1	P07477	Protease	0,10058
Metabotropic glutamate receptor 4	GRM4	Q14833	Family C G protein-coupled receptor	0,10058
Cyclooxygenase-1	PTGS1	P23219	Oxidoreductase	0,10058
Cyclooxygenase-2	PTGS2	P35354	Oxidoreductase	0,10058
Urokinase-type plasminogen activator	PLAU	P00749	Protease	0,10058
Branched-chain-amino-acid aminotransferase, mitochondrial	BCAT2	O15382	Transferase	0,10058
Cannabinoid receptor 2	CNR2	P34972	Family A G protein-coupled receptor	0,10058
Histone deacetylase 3	HDAC3	O15379	Eraser	0,10058
Histone deacetylase 2	HDAC2	Q92769	Eraser	0,10058

Polyadenylate-binding protein 1	PABPC1	P11940	Unclassified protein	0,10058
Calcium-activated potassium channel subunit alpha-1	KCNMA1	Q12791	Voltage-gated ion channel	0,10058
Metabotropic glutamate receptor 2 (by homology)	GRM2	Q14416	Family C G protein-coupled receptor	0,10058
Thromboxane-A synthase	TBXAS1	P24557	Cytochrome P450	0,10058
Transient receptor potential cation channel subfamily M member 8 (by homology)	TRPM8	Q7Z2W7	Voltage-gated ion channel	0,10058
Cyclophilin A	PPIA	P62937	Isomerase	0,10058
Thrombin	F2	P00734	Protease	0,10058
Phosphodiesterase 7A	PDE7A	Q13946	Phosphodiesterase	0,10058
Vascular endothelial growth factor receptor 2	KDR	P35968	Kinase	0,10058

Lampiran 20. Tampilan website Swiss Target Prediction.

SwissDrugDesign | SwissDock | SwissParam | SwissSidechain | SwissBioStere | **SwissTargetPrediction** | SwissADME | SwissSimilarity | About us

SIB Swiss Institute of Bioinformatics

SwissTargetPrediction

Home | FAQ | Help | Download | Contact | Disclaimer

Query Molecule

Target Classes

Export results:

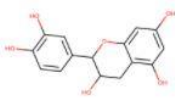
Show entries

Search:

Target	Common name	Uniprot ID	ChEMBL ID	Target Class	Probability*	Known actives (3D/2D)
Aldose reductase	AKR1B1	P15121	CHEMBL1900	Enzyme		16 / 66
Cyclin-dependent kinase 5/CDK5 activator 1	CDK5R1 CDK5	Q16078 Q00535	CHEMBL1907600	Kinase		6 / 18
Xanthine dehydrogenase	XDH	P47689	CHEMBL1929	Oxidoreductase		10 / 20
Cytochrome P450 19A1	CYP19A1	P11511	CHEMBL1978	Cytochrome P450		6 / 20
Carbonic anhydrase II	CA2	P00918	CHEMBL205	Lyase		11 / 14
	CCNB3	Q9WWL7				

Lampiran 21. Tampilan website SEA LAB.

Results of Job: [search_63febbda-3bf4-4189-843c-57ff2ae65f37](#) 

Query	Target Key	Target Name	Description	P-Value	MaxTC
 compound_1	Q98394_LEIAM		Arginase	2.131e-77	1.00
	CAH3_HUMAN	CA3	Carbonic anhydrase 3	2.411e-11	1.00
	NOS3_BOVIN	NOS3	Nitric oxide synthase, endothelial	4.509e-11	1.00
	CAH15_MOUSE	Ca15	Carbonic anhydrase 15	2.289e-10	1.00
	PGH1_SHEEP	PTGS1	Prostaglandin G/H synthase 1	2.845e-09	1.00
	PPB1_MOUSE	lap	Intestinal-type alkaline phosphatase	3.953e-09	1.00
	CAH4_HUMAN	CA4	Carbonic anhydrase 4	1.25e-06	1.00
	Q8I2J3_PLAF7		M18 aspartyl aminopeptidase	8.694e-06	1.00
	CAH5B_HUMAN	CA5B	Carbonic anhydrase 5B, mitochondrial	1.06e-05	1.00
	CAH6_HUMAN	CA6	Carbonic anhydrase 6	1.609e-05	1.00
	CAH7_HUMAN	CA7	Carbonic anhydrase 7	2.656e-05	1.00
	CAH5A_HUMAN	CA5A	Carbonic anhydrase 5A, mitochondrial	7.467e-05	1.00
	PPBT_HUMAN	ALPL	Alkaline phosphatase, tissue-nonspecific isozyme	0.002825	1.00
	CAH12_HUMAN	CA12	Carbonic anhydrase 12	0.0786	1.00
	RECA_MYCTU	recA	Protein RecA	0.3843	1.00
	CAH9_HUMAN	CA9	Carbonic anhydrase 9	0.9643	1.00
	CAH1_HUMAN	CA1	Carbonic anhydrase 1	0.9836	1.00
	CAH2_HUMAN	CA2	Carbonic anhydrase 2	0.9904	1.00
	Q8PD_YEAST	ZWF1	Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase	1.385e-107	0.80
	PLGF_HUMAN	PGF	Placenta growth factor	4.035e-80	0.56
	Q985D6_PLAFA	fabG	3-oxoacyl-acyl-carrier protein reductase	4.388e-72	0.80
	Q985D7_PLAFA	fabZ	Beta-hydroxyacyl-ACP dehydratase	7.647e-80	0.80

Lampiran 22. Tampilan website PASS (Prediction of Activity Spectra for Active Substances).

PASSonline Eisaifra Akrama (Log out) Go

» Home | » Definitions | » Products | » Services | » FAQ | » Contacts

[Predict new compound](#)
[View old results](#)
[View change profile](#)

[SMILES](#)
[MOL file](#)
[Molvis JS](#)

CC(C)C(C)C=CC(C)C1CCC2C1(CC=C
[Get prediction](#)

☒ All ☐ Pa>Pi ☐ Pa>0,3 ☐ Pa>0,7

Pa	Pi	Activity
0,959	0,002	Antihypercholesterolemic
0,947	0,003	Caspase 3 stimulant
0,928	0,001	Alcohol O-acetyltransferase inhibitor

Lampiran 23 Prediksi Bioaktivitas Senyawa Aktif Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*)

Nilai Prediksi Aktivitas PASS (Pa)	Dehydroergosterol	Ergosterol	Ergosta-7,22-dienol	Catechin	Quercetin	Chrysin	1-naphthalenecarboxamide,
Antineoplastic	0,708	0,704	0,57	0,675	0,797	0,769	0,367
Anticarcinogenic	0,219	0,279	0,22	0,795	0,757	0,618	0
Apoptosis agonist	0,88	0,886	0,856	0,698	0,887	0,842	0,258
Antioxidant	0,262	0,271	0,252	0,81	0,872	0,708	0
Antiinflammatory	0,52	0,46	0,283	0,548	0,689	0,637	0,229
Proliferative disease treatment	0	0,663	0,591	0,681	0,614	0,539	0
TP53 Enhancer	0,491	0,577	0,408	0,959	0,844	0,902	0,419
HIF-1 α Inhibitor	0,383	0,444	0,308	0,883	0,969	0,962	0
JAK2 expression inhibitor	0,47	0,508	0	0,785	0,785	0,795	0,506
Metalloproteinase matriks inhibitor	0	0,233	0	0,722	0,734	0,766	0,277
Nilai rata-rata Pa	0,3933	0,5025	0,3488	0,7556	0,794	0,7538	0,2056

Lampiran 24 Databank 40 Senyawa Aktif Jamur Tiram (*Pleurotus ostreatus*)

Hits Name	Pubchem CID	CANONICAL SMILES	ISOMERIC SMILES
Alpha-glucans	79025	<chem>C(C1C(C(C(C(O1)O)O)O)O)O</chem>	<chem>C([C@@H]1[C@H]([C@@H]([C@H]([C@H]([C@@H]1O)O)O)O)O)O</chem>
Beta-glucans	71312131	<chem>C1C(C(OC(C1O)OC2C(C(OC(C2O)OC3C(COC(C3O)C)O)O)O)CO)O</chem>	<chem>C1[C@@H]([C@H]([C@@H]([C@@H]([C@@H]([C@@H]1O)O)O)O)O)O</chem>
Dehydroergosterol [#]	6436660	<chem>CC(C)C(C)C=CC(C)C1CC=C2C1(CC=C3C2=CC=C4C3(CCC(C4)O)C)C</chem>	<chem>C[C@H]([C@H]([C@H]([C@H]([C@H]([C@H]1C)O)O)O)O)O</chem>
ergosta-5,7,22-trien-3-ol, (3 β ,22E)	22213470	<chem>CC(C)C(C)CCC(C)C1CCC2=C3CC=C4CC(CCC4(C3CCC12C)C)O</chem>	<chem>C[C@H]([C@H]([C@H]([C@H]([C@H]([C@H]1C)O)O)O)O)O</chem>
Resveratrol	445154	<chem>C1=CC(=CC=C1C=CC2=CC(=C(C2)O)O)O</chem>	<chem>C1=CC(=CC=C1/C=C/C2=CC(=CC=C2)O)O</chem>
Lovastatin	53232	<chem>CCC(C)C(=O)OC1CC(C=C2C1C(C(C=2)C)CCC3CC(C(=O)O3)O)C</chem>	<chem>CC[C@H]([C@H]([C@H]([C@H]([C@H]([C@H]1C)O)O)O)O)O</chem>
Ergosterol [#]	444679	<chem>CC(C)C(C)C=CC(C)C1CCC2C1(CCC3C2=CC</chem>	<chem>C[C@H]([C@H]([C@H]([C@H]([C@H]([C@H]1C)O)O)O)O)O</chem>

Keterangan : Tanda pagar (#) dan *bold* menunjukkan senyawa aktif yang dipilih.

Keterangan : Tanda pagar (#) dan *bold* menunjukkan senyawa aktif yang dipilih.