

***In Silico* Study of Ranti Plants Extract (*Solanum nigrum*) as JAK2 Inhibitor in Leukimia Lymphoblastic Disease**

Christine Christine, Fathia Pebriani, Muhammad A.A. Faruq, Carla Florencia*, Syahrul Hidayat, Muchtaridi Muchtaridi

Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran

Submitted 02 February 2022; Revised 24 March 2022; Accepted 04 April 2022; Published 15 April 2022

*Corresponding author: Crlflorencia@gmail.com

Abstract

Acute Lymphoblastic Leukemia (LLA) is a heterogeneous hematological disease characterized by the proliferation of immature lymphoid cells in the bone marrow, peripheral blood, and other organs due to mutations in the JAK receptor. In recent years, new strategies targeting disease-related proteins for degradation such as Proteolysis targeting chimerics (PROTAC) were studied. This study aims to study *in silico* the activity of STAT 3 and JAK 2 inhibitory compounds in ranti plants (*Solanum nigrum* L.). Testing was conducted using software including, ChemOffice 2019, AutoDockTools 1.5.6., BIOVIA Discovery Studio 2021, and Ligandscout. Of the 17 ranti plant compounds tested, only 11 met lipinski rules of five and ADMETOKS predictions which were then followed by molecular tethering. As a result, the compound N-Acetyl-L-tryptophan ethyl ester is considered the most potential as an anticancer, although it has a lower gibbs energy of -6.38 kcal / mol when compared to its natural ligand of -8.19 kcal / mol, it has fairly good inhibitory activity with an inhibition constant value (Ki) of 21.10 μ M, and interacts with the JAK 2 receptor protein on the same amino acid residues as protac natural ligands LEU A:932 and GLU A:930. The results suggest the ranti plant (*Solanum nigrum* L.) is potentially a candidate for LLA treatment, but more research is needed with more complete software.

Keywords: Acute Lymphoblastic Leukemia (LLA), ranti, lipinski rules of five, ADMETOKS, molecular tethering

Studi *In-Silico* Ekstrak dalam Tanaman Ranti (*Solanum nigrum*) sebagai Inhibitor JAK2 pada Penyakit Leukimia Limfoblastik

Abstrak

Leukemia Limfoblastik Akut (LLA) merupakan penyakit hematologi heterogen yang ditandai dengan proliferasi sel limfoid imatur di sumsum tulang, darah tepi, dan organ lainnya karena adanya mutasi pada reseptor JAK. Beberapa tahun terakhir, strategi baru yang menargetkan protein terkait penyakit untuk degradasi seperti *Proteolysis targeting chimeras* (PROTAC) diteliti. Penelitian ini bertujuan untuk studi *in silico* aktivitas senyawa penghambat STAT 3 dan JAK 2 pada tanaman ranti (*Solanum nigrum* L.). Pengujian dilakukan menggunakan perangkat lunak meliputi, ChemOffice 2019, AutoDockTools 1.5.6., BIOVIA Discovery Studio 2021, dan Ligandscout. Dari 17 senyawa tanaman ranti yang diuji, hanya 11 senyawa yang memenuhi aturan *Lipinski rules of five* dan prediksi ADMETOKS yang kemudian dilanjutkan dengan penambatan molekul. Hasilnya, senyawa N-Acetyl-L-tryptophan ethyl ester dinilai paling berpotensi sebagai antikanker, meskipun memiliki energi gibbs yang lebih rendah sebesar -6,38 kcal/mol apabila dibandingkan dengan ligan alaminya yakni -8,19 kcal/mol, memiliki aktivitas penghambatan yang cukup baik dengan nilai konstanta inhibisi (Ki) sebesar 21,10 μ M, dan berinteraksi dengan protein reseptor JAK 2 pada residu asam amino yang sama dengan ligan alami PROTAC yaitu LEU A:932 dan GLU A:930. Hasil menunjukkan tanaman ranti (*Solanum nigrum* L.) berpotensi sebagai kandidat pengobatan LLA, namun masih butuh penelitian lebih lanjut dengan perangkat lunak yang lebih lengkap.

Kata Kunci: Leukimia Limfoblastik Akut (LLA), ranti, *lipinski rules of five*, ADMETOKS, penambatan molekul

1. Pendahuluan

Leukemia Limfoblastik Akut (LLA) adalah penyakit hematologi heterogen proliferasi sel limfoid imatur di sumsum tulang, darah tepi, dan organ lainnya yang berkontribusi sebagai jenis kanker anak terbanyak dan dapat menyerang berbagai jenis kelamin dan tingkatan usia di dunia. Angka kejadian LLA yang disesuaikan dengan usia di Amerika Serikat adalah 1,8 per 100.000 orang per tahun, dengan sekitar 5.690 kasus baru dan 1.580 kematian diperkirakan pada tahun 2021.¹

Kemoterapi merupakan pengobatan utama untuk pasien LLA. Namun kemoterapi memberikan efek samping berat yang mengakibatkan penurunan kualitas hidup pada pasien kanker.^{2,3,4} Kemoterapi juga salah satu faktor risiko leukemia limfoblastik akut.

LLA disebabkan oleh adanya mutasi pada reseptor JAK1. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa JAK1 aktif berkontribusi pada perkembangan LLA. Sehingga strategi pengobatan senyawa dengan aktivitas penghambatan JAK menjadi salah satu bidang yang paling banyak diteliti dalam proses penemuan obat dan telah mengukir pencapaian besar dalam pengobatan kanker LLA.⁵ Strategi pengobatan ini menghadapi masalah resistensi obat yang sama seperti kemoterapi.^{6,7} Oleh karena itu, resistensi obat saat ini merupakan batasan utama pada terapi kanker dan perlu untuk segera diatasi.

Dalam beberapa tahun terakhir, strategi baru yang menargetkan protein terkait penyakit untuk degradasi telah mendapatkan perhatian yang luar biasa. *Proteolysis targeting chimeras* (PROTAC), yang dikenal juga sebagai pengurai protein kimia bivalen, merupakan molekul hetero bifungsional yang mendegradasi protein endogen spesifik melalui jalur ligase ubiquitin E3.⁸ PROTAC ini secara struktural menghubungkan ligan pengikat protein of interest (POI) dan ligan E3 ubiquitin ligase (E3) melalui penghubung yang sesuai.^{9,10,11,12} Keuntungan potensial dari teknologi PROTAC dapat mengimbangi kekurangan terapi obat tradisional, yang mendorong perkembangan pesat dari obat

kanker saat ini.^{13,14}

Dalam penelitian terdahulu melaporkan bahwa tanaman ranti (*Solanum nigrum* L.) telah banyak digunakan dalam Pengobatan Tradisional Cina (TCM) sebagai bahan dasar terapi kanker klinis. Studi ini menunjukkan ekstrak SN memiliki aktivitas penghambatan STAT3 yang kuat. Dengan NS aktivitas transkripsi STAT3 berkurang lebih dari 65%, dan tingkat ekspresi STAT3 dan fosforilasi JAK2 hampir sepenuhnya hilang. Hal ini menunjukkan bahwa SN memiliki potensi yang cukup tinggi untuk dijadikan agen pengobatan kanker di masa depan.¹⁵ Penelitian ini bertujuan untuk studi in silico aktivitas senyawa penghambat STAT3 dan JAK2 pada tanaman ranti (*Solanum nigrum* L.).

2. Metode

2.1. Alat

Perangkat keras yang digunakan adalah personal computer dengan spesifikasi Intel® Core™ i5-6600 CPU @ 3,90 GHz (4CPUs), GPU Nvidia Geforce GTX 970 4 Gigabyte OC Edition, dan RAM 8 Gigabyte DDR4. Adapun pada pengujian secara in silico menggunakan perangkat lunak meliputi:

1. Program ChemOffice 2010 (PerkinElmer Inc., diunduh di <http://www.cambridgesoft.com/>) yang digunakan untuk menggambar struktur 2D dan struktur 3D (lisensi atas nama UNPAD).
2. Program AutoDockTools 1.5.6 (The Scripps Research Institute, diunduh di <http://www.autodock.scripps.edu/>) untuk melakukan simulasi penambatan molekuler.
3. Program BIOVIA Discovery Studio 2021 yang diunduh di <http://www.accelrys.com/> untuk memvisualisasikan kompleks pdb, ikatan antara ligan dengan reseptor JAK2, optimasi geometri, dan validasi.
4. Program Ligandscout untuk melakukan pemodelan farmakofor.

2.2. Bahan

Bahan yang digunakan meliputi struktur

tiga dimensi JAK2 yang diunduh dari Protein Data Bank (PDB) (<http://www.rcsb.org/>) dengan kode ID 6WTQ dan struktur tiga dimensi senyawa-senyawa bahan alam yang telah diunduh dari Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) yang telah dipreparasi menggunakan perangkat lunak ChemOffice 2010.

2.3. Metode

2.3.1. Prediksi Lipinski

Dibuat struktur 2D dari seluruh molekul senyawa uji menggunakan software ChemDraw. Seluruh struktur molekul 2D pada senyawa uji diubah ke dalam bentuk 3D dengan software Chem3D. Lalu dilakukan optimasi geometri atau minimisasi energi dengan software tersebut. Prediksi sifat fisikokimia dari senyawa yang diuji dilakukan secara online pada website SwissADME <http://www.swissadme.ch/index.php> dan ditentukan senyawa uji yang sesuai dengan aturan *Lipinski rules of five*.

2.3.2. Penentuan ADMETOKS

Penentuan ADMETOKS dilakukan dengan mengunjungi website yang ditentukan yaitu <https://preadmet.bmdrc.kr/>. Kemudian dilakukan prediksi ADME dengan memilih menu "ADME" pada task di pojok kanan atas. Gambar struktur senyawa uji akan muncul pada kolom lalu di submit sehingga diperoleh informasi mengenai ADME. Diunduh berkas sehingga hasil prediksi dapat tersimpan. Untuk melihat profil toksisitas suatu senyawa dipilih task toxicity pada bagian pojok kanan atas kemudian gambar senyawa akan muncul dan di tekan submit. Dengan cara yang sama seperti sebelumnya, unduh berkas untuk menyimpan hasil prediksi.

2.3.3. Simulasi Penambatan Molekuler

Reseptor yang digunakan dalam simulasi penambatan molekuler adalah hasil penggambaran *X-ray diffraction* dari JAK-2 yang diambil dari PDB dengan ID: 6WTQ yang dikompleksi dengan molekul adenosin trifosfat (ATP) dan dua ion magnesium.¹⁶ Ligan yang telah di kompleks dipisahkan menggunakan aplikasi BIOVIA Discovery Studio 2017

R2 Client. Struktur 3D dari senyawa pada *Solanum nigrum* dan turunannya dioptimasi menggunakan ChemOffice 2010 dan ChemDraw Ultra 12.0 (PerkinElmer Inc.).

Proses simulasi penambatan molekuler dilakukan berdasarkan studi preparasi sebelumnya.¹⁷ Receptor JAK2 dan ligan dipreparasi menggunakan aplikasi AutoDock Tools 1.5.6. Reseptor JAK2 dan ligan tersebut diprotonasi. Kollman Charges ditambahkan pada receptor JAK2 yang berperan sebagai reseptor dan Gasteiger charges ditambahkan pada ligan.¹⁸ Parameter grid yang digunakan terdiri dari ukuran kotak $40 \times 40 \times 40$ dengan jarak $0,375 \text{ \AA}$ dan disesuaikan dengan sisi aktif JAK-2 pada koordinat $x = 21,484$; $y = -18,701$; dan $z = 4,062$.

Data parameter penambatan molekul yang digunakan berdasarkan pada Lamarckian Genetic Algorithm (LGA) dengan $100\times$ pengulangan, ukuran populasi 150, evaluasi energi 2.500.000, laju mutasi gen 0,02, dan laju crossover sebesar 0,8.¹⁹ Hasil konformasi penambatan molekul ini diklasifikasi berdasarkan energi ikatan terendah (ΔG) yang selanjutnya dipilih sebagai molekul hasil penambatan terbaik.

2.3.4. Pemodelan Farmakofor

Pertama dilakukan pengunduhan makromolekul (reseptor) dari Situs Bank Data Protein (<https://www.rcsb.org/>). Lalu masukan kode pdb protein JAK-2 pada manusia dengan PDB ID: 6WTQ; (Format PDB gz untuk MacOS) yang akan diunduh pada kotak di area atas sebelah kanan, kemudian tekan tombol *Download*. Setelah itu buka *Software LigandScout*, tekan tab file lalu buka file pdb 6WTQ. Protein akan terunduh dan ditampilkan dalam mode macromolecule view, dimana protein digambarkan dalam bentuk ribbon dan ligan berada dalam kotak yang berwarna kuning. Klik pada kotak yang berwarna kuning yang berada dalam protein, sehingga molekul ligand akan di zoom, dan informasinya akan tampil di jendela sebelah kanan.

Apabila molekul ligan dalam data pdb strukturnya tidak lengkap, misalnya ada salah satu ikatan yang putus, hal ini dapat diperiksa

dengan cara mengklik ikatan pada tampilan 2D atau pada tampilan 3D, dan apabila ada yang tidak sesuai, ikatan tersebut dapat diperbaiki dengan mengklik tombol *retype bond* atau tombol [1], [2] dan [3]. Apabila molekul ligand sudah benar, tekan tombol [Ctrl+F9] untuk membuat farmakofor atau buka tab farmakofor dan klik "Buat Farmakofor". Lalu identifikasi farmakofor termasuk:

- Positif terionisasi: bintang biru
- Hidrofobik: bola kuning
- Donor ikatan hidrogen: panah hijau
- Akseptor ikatan hidrogen: panah merah

Selanjutnya simpan gambar 3D dan 2D. Buka tab file Simpan sebagai file simpan ke format ".jpg/png". Simpan ke resolusi yang diinginkan (misalnya: 1920 x 1080), Klik tombol 3D atau 2D di sisi kanan. Sifat ligan dapat dilihat dengan mengklik panel "Tab Detail Ligan".

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Penentuan Lipinski

Dalam suatu penemuan obat oral, tentu sangat dibutuhkan profil kelarutan dan permeabilitas yang baik. Pada tahun 1997, Christopher A. Lipinski mengeluarkan aturan yaitu *Lipinski Rule of Five* (RO5) guna mempercepat proses penemuan obat berdasarkan kelarutan dan permeabilitas kandidat obat. Berdasarkan aturan Lipinski,

senyawa yang dapat dijadikan kandidat obat oral harus memenuhi kriteria parameter berikut: donor ikatan hidrogen <5, akseptor ikatan hidrogen <10, bobot molekul <500, dan $\log P < 5$.²⁰

Aturan tersebut memaparkan bahwa senyawa dengan berat molekul >500 dapat menyebabkan penurunan permeabilitas dalam usus dan sistem saraf pusat (SSP). Selanjutnya, $\log P$ atau nilai kelarutan suatu senyawa dalam pelarut oktanol dan air harus <5, nilai ini menjelaskan mengenai lipofilisitas senyawa sebagai ukuran kemampuan senyawa dalam menembus membran sel yang terdiri dari lipid bilayer. Kemudian, selain dari berat molekul dan lipofilisitas, terdapat donor dan akseptor ikatan hidrogen pada senyawa yang dapat mempengaruhi farmakokinetik obat. Bila pada suatu senyawa terdapat banyak pendonor (>5) dan akseptor (>10) ikatan hidrogen akan menyebabkan senyawa tersebut kesulitan dalam menembus membran lipid bilayer karena akan cenderung terpartisi di dalam pelarut dengan ikatan hidrogen yang kuat seperti air.^{21,22}

Pada tabel 1 tertera bahwa terdapat 11 dari 17 senyawa tanaman ranti (*Solanum nigrum*) yang memenuhi syarat *Rule of Five* (RO5) sehingga dapat dijadikan sebagai kandidat obat oral.

3.2. Penentuan ADMETOKS

Pada penentuan prediksi ADMETOKS

Tabel 1. Parameter Prediksi Lipinski

No.	Nama Senyawa	Berat Molekul (< 500 Da)	Log P (<5)	Ikatan Hidrogen		Keterangan
				Log P (<5)	Akseptor (<10)	
1.	Cyclopentasiloxane. decamethyl	370,77	1,58	0	5	Sesuai persyaratan
2.	L-Proline, ethyl ester	143,18	0,74	1	3	Sesuai persyaratan
3.	2-Ethyl-1-butanol, methyl ether	116,20	2,04	0	1	Sesuai persyaratan
4.	Cyclotetrasiloxane. octamethyl	296,62	1,33	0	4	Sesuai persyaratan
5.	Butanedioic acid, hydroxy-, diethyl ester	190,19	0,52	1	5	Sesuai persyaratan
6.	1,1,3,3,5,5,7,7-Octamethyl-7-(2-methylpropoxy) tetrasiloxane-1-ol	370,74	1,88	1	5	Sesuai persyaratan
7.	Dodecanoic acid, 3-hydroxy-, ethyl ester	244,37	3,60	1	3	Sesuai persyaratan

Tabel 1. Parameter Prediksi Lipinski

No.	Nama Senyawa	Berat Molekul (< 500 Da)	Log P (<5)	Ikatan Hidrogen		Keterangan
				Log P (<5)	Akseptor (<10)	
8.	Dodecanedioic acid, bis (tert-butyl dimethylsilyl) ester	458,82	7,98	0	4	logP terlalu besar
9.	2-Pyrrolidinecarboxylic acid-5-oxo-, ethyl ester	157,17	0,20	1	3	Sesuai persyaratan
10.	1-Dodecanamine, N,N-dimethyl-	213,40	4,51	0	1	Sesuai persyaratan
11.	Cyclooctasiloxane, hexadecamethyl-	593,23	5,75	0	8	Berat molekul dan logP terlalu besar
12.	5-keto-2, 2-dimethylheptanoic acid, ethyl ester	200,27	2,25	10	3	Sesuai persyaratan
13.	9,12,15-Octadecatrienoic acid	278,43	5,09	1	2	LogP terlalu besar
14.	Octadecanoic acid	284,48	5,93	1	2	LogP terlalu besar
15.	Octadecenal	266,46	6,01	0	1	LogP terlalu besar
16.	9-Octadecenamide	281,48	5,32	1	1	LogP terlalu besar
17.	N-Acetyl-L-tryptophan ethyl ester	274,32	1,91	2	3	Sesuai persyaratan

diamati absorpsi, distribusi, dan toksisitas dari senyawa-senyawa obat dan didapatkan ditentukan senyawa yang memiliki bioavailabilitas yang baik sehingga menghindari kegagalan pada tahap-tahapan berikutnya.

Hasil yang diperoleh 11 senyawa yang telah memenuhi prediksi lipinski sebelumnya. Pada penentuan absorpsi, semua senyawa memenuhi nilai HIA yang baik yaitu memenuhi syarat 70-100% yang dikategorikan sebagai kemampuan absorpsi tinggi. Dari 11 senyawa, 7 diantaranya memenuhi persyaratan Caco-2 yang menunjukkan permeabilitas tinggi dengan nilai >70 nm/sec.

Dalam prediksi distribusi, 8 senyawa memenuhi syarat dengan menunjukkan nilai PPB yang memenuhi syarat yaitu >50% yang menandakan senyawa terikat kuat.

Sedangkan untuk nilai BBB, semua senyawa tidak memenuhi syarat karena nilai nya yang <0,1 yang menandakan kemampuan absorpsi rendah. Untuk prediksi toksisitas, semua senyawa tidak bersifat karsinogen namun salah satu senyawa bersifat mutagen.

Hasil prediksi ADMETOKS diperoleh 6 senyawa yang memenuhi syarat dan dapat dilanjutkan ke tahap berikutnya. Senyawa-senyawa tersebut diantaranya adalah Cyclopentasiloxane decamethyl; 2-Ethyl-1-butanol, methyl ether; Cyclotetrasiloxane. Octamethyl; Dodecanoic acid, 3-hydroxy-, ethyl ester; 2-Pyrrolidinecarboxylic acid-5-oxo-, ethyl ester; dan 1-Dodecanamine, N,N-dimethyl (Tabel 2).

3.3. Penentuan Farmakofor

Untuk penentuan pemodelan farmakofor,

Tabel 2. Parameter Penentuan ADMETOKS

No.	Nama Senyawa	Absorpsi		Distribusi		Toksitas	
		HIA (%)	Caco-2 (nm/sec)	PPB (%)	BBB	Mutagen	Karsinogen
1.	Cyclopentasiloxane. decamethyl	90,24	1,47	103,60	0,32	No	No
2.	L-Proline, ethyl ester	99,67	1,57	10,55	-0,19	No	No
3.	2-Ethyl-1-butanol, methyl ether	96,42	1,37	57,08	0,58	No	No

Tabel 2. Parameter Penentuan ADMETOKS

No.	Nama Senyawa	Absorpsi		Distribusi		Toksistas	
		HIA (%)	Caco-2 (nm/sec)	PPB (%)	BBB	Mutagen	Karsinogen
4.	Cyclotetrasiloxane. octamethyl	92,05	1,93	100,65	0,60	No	No
5.	Butanedioic acid, hydroxy-, diethyl ester	92,84	0,92	20,16	-0,50	No	No
6.	1,1,3,3,5,5,7,7-Octamethyl-7-(2-methylpropoxy) tetrasiloxane-1-ol	88,59	1,59	102,58	-0,10	Yes	No
7.	Dodecanoic acid, 3-hydroxy-, ethyl ester	92,19	159,10	92,54	-0,04	No	No
8.	2-Pyrrolidinecarboxylic acid-5-oxo-, ethyl ester	97,02	114,10	16,25	-0,28	No	No
9.	1-Dodecanamine, N,N-dimethyl-	89,87	136,20	77,18	0,92	No	No
10.	5-keto-2, 2-dimethylheptanoic acid, ethyl ester	97,40	-4,49	60,44	-0,05	No	No
11.	N-Acetyl-L-tryptophan ethyl ester	92,57	0,94	25,86	-0,24	No	No

perangkat lunak *LigandScout* digunakan. *LigandScout* adalah sistem komputasi untuk proses penyaringan farmakofor yang akurat berdasarkan model tiga dimensi. Metode yang digunakan dalam pemodelan farmakofor adalah metode desain obat berbasis struktur dimana target biologis penyakit diketahui. Tujuan dari prosedur ini adalah untuk menemukan dan mengidentifikasi farmakofor dalam senyawa baru yang mungkin aktif terhadap target yang dituju.

Ada beberapa parameter farmakofor yang digunakan yaitu hidrofobisitas, donor ikatan hidrogen, akseptor ikatan hidrogen, dan area beberapa ion bermuatan positif atau negatif. Pada penelitian ini dipilih protein 6WTQ sebagai reseptor untuk enzim penghambat JAK2 yang berperan salah satunya dalam menekan perkembangan penyakit LLA. Ligan standar untuk reseptor ini ($C_{20}H_{21}N_7O$) memiliki berat molekul sebesar 375,44. Beberapa parameter farmakofor lain pada reseptor ini memberikan hasil berupa nilai log P sebesar 3,15; donor ikatan hidrogen sebanyak 1 atom; akseptor ikatan hidrogen sebanyak 2 atom; serta area terionisasi positif dan negatif sebanyak 0 area.

Dari hasil pemodelan farmakofor yang didapat, ligan standar telah memenuhi seluruh aturan *Lipinski's Rule of Five*, mulai dari berat molekul dari ligan standar yang berada dibawah 500 Da sehingga dapat dikatakan mudah dalam berdifusi melewati membran sel. Untuk nilai log P dari ligan standar berada dalam rentang syarat *Lipinski's Rule of Five*, hal ini menunjukkan selektivitas dari ikatan terhadap enzim target akan tetap baik dan molekul tetap dapat menembus membran lipid bilayer. Lalu, untuk jumlah donor dan akseptor ikatan hidrogen dari protein target sebanyak 1 dan 2 sehingga memenuhi *Lipinski's Rule of Five* yang menggambarkan jika kapasitas ikatan hidrogen tidak terlalu tinggi, maka energi yang dibutuhkan untuk mengabsorpsi zat aktif tersebut juga akan semakin rendah.

3.4. Validasi Penambatan Molekuler

Validasi penambatan molekul dilakukan dengan melakukan penambatan kembali (*re-docking*) antara reseptor dengan ligan alami. Reseptor yang digunakan dilihat dari data *Protein Drug Bank* (PDB) dengan kode 6WTQ yang merupakan reseptor JAK2 yang membentuk kompleks dengan PROTAC. Struktur protein yang didapat

dari PDB biasanya masih memiliki molekul pelarut seperti air dan residu lainnya. Oleh karena itu, pada saat proses persiapan perlu dilakukan eliminasi molekul air sehingga tidak akan mengganggu proses *docking* dan ligan benar-benar berinteraksi dengan reseptor. Hidrogen juga perlu ditambahkan ke dalam protein disebabkan protein yang terdapat pada PDB umumnya dipreparasi melalui *X-ray diffraction* dimana atom hidrogen tidak akan terlihat ketika melewati eksperimen ini. Oleh karena itu, penambahan hidrogen dibutuhkan pada simulasi *docking* sehingga posisi hidrogen yang terdapat pada struktur yang didapatkan menjadi optimal dan posisi yang diinginkan dari atom-atom secara energetik dapat ditentukan.^{22,23}

Reseptor juga dipilih karena memiliki resolusi sebesar 1,80 Å. PROTAC sendiri sebagai ligan alami dikembangkan untuk mendegradasi JAK-2 dan dapat membunuh secara potent CRLF2-r (*CRLF2-rearranged*) yang merupakan penyebab leukemia limfoblastik akut. Ekskresi CRLF2-r yang berlebihan dapat mengaktifasi reseptor JAK-STAT.²² Hasil validasi dengan melakukan penambatan ulang terbaik menunjukkan hasil nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*) sebesar 1,72 yang menunjukkan hasil validasi yang baik dimana dimana syarat nilai RMSD tidak lebih dari sama dengan 2. RMSD adalah parameter yang menunjukkan perubahan dari interaksi antara protein dan ligan pada struktur kristalnya sebelum dan setelah dilakukan *docking*.²⁴ Ligan asli yang telah dipisahkan dari reseptor 6WTQ kemudian didocking kembali dengan reseptor 6WTQ dengan Autodock Vina dengan menggunakan *grid box* X= 40 Y=40, Z=40 dengan *grid coordinate* X=21,48, Y=-18,70, dan Z=4,06. *Gridbox* berperan untuk melihat reseptor yang akan dilakukan *docking* dari koordinat x,y, dan z sehingga konformasi energi dari ligan terendah dapat diketahui. Hasil ini menunjukkan metode *docking* bersifat *valid* dan dapat dilanjutkan dengan *docking* terhadap kandungan senyawa tanaman *Solanum nigrum*. Oleh karena itu, *gridbox* yang telah didapat digunakan untuk proses *docking* senyawa selanjutnya sebagai titik

koordinat tempat senyawa akan berikatan dengan reseptor 6WTQ.

3.5. Penambatan Molekuler

Tabel 1. Memperlihatkan beberapa parameter hasil penambatan molekul dari PROTAC (ligan alami), dan senyawa pada *Solanum nigrum* yang telah memenuhi syarat pada *Lipinski Rules of Five* dan prediksi ADMETOKS dimana parameter yang digunakan terdiri dari energi bebas (kcal/mol), konstanta inhibisi (uM), dan interaksi yang terbentuk dengan residu asam amino. Simulasi penambatan molekul sendiri berfungsi untuk mendapatkan konformasi interaksi dari senyawa yang berpotensi terhadap sisi aktif yang dimiliki reseptor dan mendapatkan senyawa potensi pada *Solanum nigrum* memiliki afinitas yang terbaik pada reseptor.

Berdasarkan Tabel 1 dapat terlihat bahwa senyawa yang memiliki energi bebas gibbs ikatan (ΔG) dan konstanta inhibisi terendah adalah N-Acetyl-L-tryptophan ethyl ester dengan $\Delta G = -6,38$ kcal/mol dan Ki 21.107 micromolar diikuti dengan 5-keto 2, 2-dimethylheptanoic acid dengan $\Delta G = -5,10$ kcal/mol dan Ki 183.00 nanomolar .

Hasil *docking* dari Tabel 1 menunjukkan bahwa afinitas ikatan dari senyawa dalam *Solanum nigrum* lebih tinggi dibandingkan dengan ligan alaminya dilihat dari nilai energi bebas gibbs ikatan dan konstanta inhibisinya sehingga menunjukkan ikatan antara reseptor dan senyawa pada *Solanum nigrum* lebih lemah dibandingkan ligan alaminya. Semakin rendah dari nilai energi bebas Gibbs yang akan dilepaskan ketika terjadi interaksi antara reseptor dan senyawa, maka semakin kuat ikatan kompleks antara reseptor dengan senyawa. Hal ini disebabkan karena pada senyawa dan reseptor terjadi kestabilan dan peningkatan pada interaksi non-kovalen sehingga menyebabkan sel lebih mudah masuk dan menghambat replikasi DNA dan proses metabolismenya sehingga sel menjadi mati. Energi bebas Gibbs ikatan (ΔG) juga memiliki nilai yang berbanding lurus dengan nilai konstanta inhibisinya (Ki). Nilai Ki sendiri memperlihatkan gambaran dari afinitas

antara senyawa dan juga penguraian yang terjadi. Jika nilai K_i semakin kecil maka kesetimbangan dari reaksi yang terjadi akan menuju ke arah pembentukan dari kompleks senyawa dengan reseptor. Kompleks dari senyawa berpotensi dengan reseptor apabila memiliki nilai K_i dalam skala nanomolar maka memiliki nilai afinitas yang baik.²⁵ Energi bebas ikatan dan konstanta inhibisi berhubungan dengan afinitas pengikatan dimana untuk melihat kemampuan dari suatu obat atau senyawa berikatan dengan reseptornya. Walaupun hasil afinitas ikatan senyawa uji lebih lemah dibandingkan dengan ligan alaminya, hasil docking senyawa-senyawa pada tanaman *Solanum nigrum* pada tabel 1 memiliki nilai energi bebas Gibbs ikatan (ΔG) <0 dimana menunjukkan terdapat interaksi antara reseptor dengan ligan alaminya dan menunjukkan senyawa-senyawa tersebut berpotensi menghambat JAK2.

Analisis dari simulasi penambatan molekul dilakukan visualisasi analisis dari ligan uji berupa senyawa dan ligan pembanding yaitu obat pembanding. Hasil visualisasi adalah interaksi asam amino dengan ligan yang memprediksi kemungkinan kontak antara ligan dengan reseptor JAK2 sehingga dapat memberikan aktivitas penghambatan pada reseptor JAK2. Area ikatan atau *binding site* akan menunjukkan residu-residu asam amino yang berpengaruh untuk membuat interaksi antara ligan dengan makromolekul, seperti

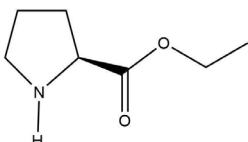
ikatan hidrofobik, ikatan hidrogen, dan ikatan elektrostatik.

Hasil penambatan dari ligan alami PROTACs menunjukkan asam amino yang berperan sebagai sisi aktif yaitu ikatan hidrogen dengan LEU A:932, LEU A:855, GLU A:930 dan ikatan lain dengan LEU A:983, ALA A:880, VAL A:911, ASP A:994, MET A:929, dan GLY A:935 yang dijadikan sebagai acuan untuk membandingkan residu asam amino yang dapat berikatan dengan ligan uji berupa senyawa pada *Solanum nigrum* yang berpotensi menghambat reseptor JAK2. Hasil dari docking pada tabel 3 menunjukkan bahwa beberapa senyawa pada *Solanum nigrum* telah berinteraksi dengan protein reseptor JAK2 melalui ikatan hidrogen yang terjadi pada residu asam amino LEU A:932 dan GLU:930. Residu asam amino pada ikatan hidrogen tersebut sama dengan interaksi yang terjadi antara ligan alami (PROTACs) dengan reseptor JAK2. Hal ini menunjukkan bahwa kantung/sisi aktif tempat ligan alami dan senyawa pada *Solanum nigrum* berikatan pada tempat yang sama dan diharapkan mampu memberikan afinitas yang sama dalam menghambat kerja reseptor JAK2. Dari beberapa senyawa *Solanum nigrum* terdapat satu senyawa yaitu N-Acetyl-L-tryptophan ethyl ester yang memiliki afinitas mendekati ligan alami (PROTACs).

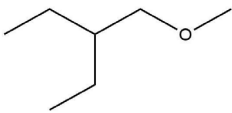
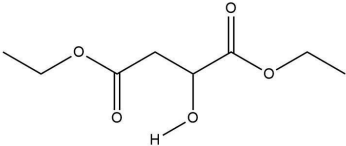
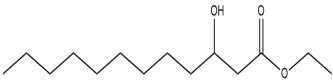
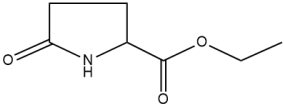
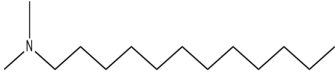
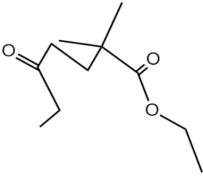
5. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian untuk

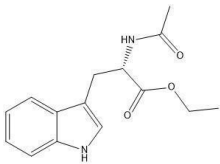
Tabel 3. Parameter Penambatan Molekul

No.	Senyawa & Struktur	Rumus Formula	Energi Bebas (kcal/mol)	K_i (nM)	Interaksi dengan Asam Amino	
					Ikatan Hidrogen	Ikatan Lain
1.	Ligan Alami (PROTACs atau Proteolysis-targeting chimeras)		-8,219	992,44	LEU A:932 LEU A:855 GLU A:930	LEU A:983 ALA A:880 VAL A:911 ASP A:994 MET A:929 GLY A:935
2.	L-Proline, ethyl ester 	$C_7H_{13}NO_2$	-4,78	311,05	GLU A:930	TYR A:931 LEU A:932 LEU A:855 LEU A:983 VAL A:863

Tabel 3. Parameter Penambatan Molekul

No.	Senyawa & Struktur	Rumus Formula	Energi Bebas (kcal/mol)	Ki (nM)	Interaksi dengan Asam Amino	
					Ikatan Hidrogen	Ikatan Lain
3.	2-Ethyl-1-butanol, methyl ether 	$C_7H_{16}O$	-3,66	2,07 μ M	LEU A:932	VAL A:911 ALA A:880 MET A:929 GLU A:930 LEU A:983 LEU A:855 TYR A:931
4.	Betanedioic acid, hydroxy-, diethyl ester 	$C_8H_{14}O_5$	-4,33	673,66	LEU A: 932 GLU A:930	GLY A:935 LEU A:983 LEU A:855 VAL A:863 MET A:929
5.	Dodecanoic acid, 3-hydroxy-, ethyl ester  Dodecanoic acid, 3-hydroxy-, ethyl ester	$C_{14}H_{28}O_3$	-4,96	231,68	LEU A:932	LEU A:855 VAL A:863 ALA A:880 VAL A:911 MET A:929 LEU A:983
6.	2-Pyrrolidinecarboxylic acid-5-oxo-, ethyl ester  2-Pyrrolidinecarboxylic acid-5-oxo-, ethyl ester	$C_7H_{11}NO_3$	-4,70	358,39	LEU A:932	TYR A:931
7.	1-Dodecanamine, N,N-dimethyl-  1-Dodecanamine, N,N-dimethyl-	$C_{14}H_{31}N$	-4,27	736,79	-	LEU A:855 VAL A:863 ALA A:880 VAL A:911 MET A:929 TYR A:931 LEU A:932 LEU A:983
8.	5-keto-2,2-dimethylheptanoic acid, ethyl ester 	$C_{11}H_{20}O_3$	-5,10	183,00	SER A:936 ARG A:938	LEU A:855

Tabel 3. Parameter Penambatan Molekul

No.	Senyawa & Struktur	Rumus Formula	Energi Bebas (kcal/mol)	Ki (nM)	Interaksi dengan Asam Amino	
					Ikatan Hidrogen	Ikatan Lain
9.	N-Acetyl-L-tryptophan ethyl ester 	C ₁₅ H ₁₈ N ₂ O ₃	-6,38	21,10 uM	GLU A:930	VAL A:863 ALA A:880 LEU A:855 LEU A:932 VAL A:911 LEU A:983 MET A:929

studi *in silico* aktivitas senyawa penghambat STAT 3 dan JAK2 pada tanaman ranti (*Solanum nigrum* L.) menggunakan perangkat lunak ChemOffice 2019, AutoDockTools 1.5.6., BIOVIA Discovery Studio 2021, dan Ligandscout dari 17 senyawa tanaman ranti yang diuji, hanya 11 senyawa yang memenuhi aturan Lipinski rules of five dan prediksi ADMETOKS serta penambatan molekul. Dari beberapa senyawa tersebut N-Acetyl-L-tryptophan ethyl ester paling berpotensi dijadikan sebagai antikanker dengan energi gibbs yang lebih rendah sebesar -6,38 kcal/mol, memiliki aktivitas penghambatan yang cukup baik dengan nilai konstanta inhibisi (Ki) sebesar 21,10 uM dan berinteraksi dengan protein reseptor JAK 2 pada residu asam amino yang sama dengan ligan alami PROTAC yaitu LEU A:932 dan GLU A:930. Selain itu, senyawa ini memiliki profil farmakokinetika yang baik dengan nilai HIA (92,565 %), Sel CaCO₂ (25,86 nm/dtk) dan PPB (25,86 %). Pada pengujian toksisitas senyawa ini menunjukkan hasil non mutagenik dan non karsinogenik. Tanaman ranti (*Solanum nigrum*) menunjukkan potensi untuk menjadi obat untuk LAL namun perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai isolasi senyawa aktif dan dilakukan pengujian secara *in vitro* ataupun *in vivo*.

Daftar Pustaka

1. Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A, et al. Cancer Statistics, CA Cancer J Clin. 2021;71(1):7–33.
2. Churchman ML, Evans K, Richmond J, Robbins A, Jones L, Shapiro IM, et al. Synergism of FAK and tyrosine kinase inhibition in Ph+ B-ALL. JCI insight. 2016;1(4).
3. Turcotte M, Bosse RC, Hawkins KE, Meacham A, Vijay V, Chinnaswamy G, et al. Personalized Therapy Design for Early T-Cell Precursor Acute Lymphoblastic Leukemia (ETP-ALL) Using Computational Biology Modeling with in Vitro Validation. Blood. 2017;130:1448.
4. Zhang C, Han XR, Yang X, Jiang B, Liu J, Xiong Y, et al. Proteolysis targeting chimeras (PROTACs) of anaplastic lymphoma kinase (ALK). European journal of medicinal chemistry. 2018;151:304–314.
5. Wu CY, Roybal KT, Puchner EM, Onuffer J, Lim WA, et al. Remote control of therapeutic T cells through a small molecule–gated chimeric receptor. Science. 2015;350.6258(2015): aab4077.
6. Dong J, Qin Z, Zhang WD, Cheng G, Yehuda AG, Ashby CR, et al. Medicinal Chemistry Strategies to Discover P-Glycoprotein Inhibitors: An Update. Drug Resist. Updates. 2020;49:100681.
7. Xu JL, Yuan L, Tang YC, Xu ZY, Xu HD, Cheng XD, et al. The Role of Autophagy in Gastric Cancer Chemoresistance: Friend or Foe?. Front. Cel Dev Biol. 2020;8:621428.
8. Potjewyd F, Turner AMW, Beri J, Rectenwald JM, Norris-Drouin JL, Cholensky SH, et al. Degradation of Polycomb Repressive Complex 2 with an EED-Targeted Bivalent Chemical Degradator. Cel Chem. Biol. 2020;27:47–56.
9. Buckley DL, Raina K, Darricarrere N,

- Hines J, Gustafson JL, Smith IE, et al. HaloPROTACS: Use of Small Molecule PROTACs to Induce Degradation of HaloTag Fusion Proteins. *ACS Chem. Biol.* 2015;10:1831–1837.
10. Zhang X, Thummuri D, He Y, Liu X, Zhang P, Zhou D, et al. Utilizing PROTAC Technology to Address the On-Target Platelet Toxicity Associated with Inhibition of BCL-XL. *Chem. Commun.* 2019;55: 14765–14768
 11. Kregel S, Wang C, Han X, Xiao L, Fernandez-Salas E, Bawa P, et al. Androgen Receptor Degradation Overcome Common Resistance Mechanisms Developed during Prostate Cancer Treatment. *Neoplasia.* 2020;22:111–119.
 12. Vollmer S, Cunoosamy D, Lv H, Feng H, Li X, Nan Z, et al. Design, Synthesis, and Biological Evaluation of MEK PROTACs. *J. Med. Chem.* 2020;63:157–162.
 13. Toure M, and Crews CM. Small-Molecule PROTACS: New Approaches to Protein Degradation. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2016;55:1966–1973.
 14. Sun X and Rao Y. PROTACs as Potential Therapeutic Agents for Cancer Drug Resistance. *Biochemistry.* 2020;59:240–249.
 15. Park DW, Lyu JH, Kim JS, Chin H, Bae YS, Baek SH, et al. Role of JAK2–STAT3 in TLR2-mediated tissue factor expression. *Journal of Cellular Biochemistry.* 2013;114(6):1315–1321.
 16. Zhang H., Zhao H. Y., Xi X.X., Liu Y. J., Xin M., Mao S., et al. Discovery of Potent Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Degradation by Proteolysis Targeting Chimera (PROTAC). *Eur. J. Med. Chem.* 2020;189:112061.
 17. Muchtaridi, M., Syahidah, H. N., dan Subarnas, A. Molecular Docking and 3D-Pharmacophore Modeling to Study the Interactions of Chalcone Derivatives with Estrogen Receptor Alpha. *Pharmaceuticals.* 2017; 10(4): 81.
 18. Weiner, S. J., Kollman, P. A., Case, D. A., Singh, U. C., Ghio, C., Alagona, G., Profeta, S., Jr & Weiner, P. A. A new force field for molecular mechanics simulation of nucleic acids and proteins. *J. Am. Chem. Soc.* 1984; 106: 765–784.
 19. Morris, G.M., Huey, R. dan Lindstrom, W. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated Docking with Selective Receptor Flexibility. *Journal of Computational Chemistry.* 2009; 30(16): 2785–2791.
 20. Lipinski, CA. Lead- and Drug-Like Compounds: The Rule-Of-Five Revolution. *Drug Discovery Today: Technologies.* 2004; 1(4): 337–341.
 21. Lipinski, C.A., Lombardo, F., Dominy, B.W., dan Feeney, F.J. Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug Discovery and Development Settings. *Reviews.* 1997; 23: 3–25.
 22. Pollastri MP. Overview on the Rule of Five. *Current Protocols in Pharmacology.* 2010;49:9.12.1–9.12.8.
 23. Muttaqin, F.Z, Ismail, H., & Muhammad, H.N. Studi Molecular Docking, Molecular Dynamic, dan Prediksi Toksisitas Senyawa Turunan Alkaloid Naftiridin sebagai Inhibitor Protein Kasein Kinase 2- α pada Kanker Leukimia. *Pharmacoscript.* 2019;2(1):49–64
 24. Chang Y, Min J, Jarusiewicz J.A., Actis M, Bradford S.Y.C, Mayasundari A, Yang L, Chepyala D, Alcock L, Roberts K.G, Nithianantham S, Maxwell D, Rowland L, Larsen R, Seth A, Goto H, Imamura T, Akahane K & Mullighan C.G. Degradation of Janus Kinase CRLF2-rearranged acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2021;138(23):2301–2302
 25. Mardianingrum R, Herlina T, & Supratman U. Isolasi dan Molecular Docking Senyawa 6,7-Dihidro-17-Hidroksierisotrin dari Daun Dadap Belendung (*Erythrina poeppigiana*) terhadap Aktivitas Sitotoksik Antikanker Payudara MCF-7. *Jurnal Chimica et Natura Acta.* 2015;3(3):90–93.
 26. Kementrian Kesehat RI. 2016;
 27. Organization WH. Guidelines for the regulation of herbal medicines in the south-east asia region: Developed at the regional workshop on the regulation of herbal medicines, Bangkok, 24–26 June 2003, New Delhi: Regional Office for South East Asia. World Health Organ.

- 2003;
28. BPOM R. Non-clinical toxicity test guidelines in in vivo (Indonesian: Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In vivo). Jkt Badan Pengawas Obat Dan Makanan Repub Indones. 2014
29. Firmansyah NA. Pengaruh Pemberian Bawang Putih Hitam (Black Allium sativum) Terhadap Penurunan Kadar Kolesterol Pada Mencit (*Mus musculus*) [PhD Thesis]. Universitas Muhammadiyah Surabaya; 2019.