

In Silico Study of Licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.) on VEGFR-2 Receptors in Breast Cancer

Ahda S. Izzaturahmi^{1*}, Ai S.U. Pauziah¹, Amrina Virliana¹, Gloria M.L. Sitinjak¹, Ziyah Z. Ramadhiany¹, Angela A. Elaine¹, Bernap D.P. Sitinjak¹, Diah L. Aulifa²

¹Program Studi S1 Farmasi Departemen Analisis Farmasi dan Kimia Medisinal, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Jawa Barat, Indonesia

²Departemen Analisis Farmasi dan Kimia Medisinal, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran Sumedang, Indonesia

Submitted 27 February 2023; Revised 07 November 2023; Accepted 13 November 2023 ; Published 3 December 2023

*Corresponding author: ahda20001@mail.unpad.ac.id

Abstract

Breast cancer is a malignancy in breast tissue originating from the ductal and lobular epithelium. Breast cancer is one type of cancer that is the main cause of cancer death in Indonesia and has the highest prevalence in women. Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2 (VEGFR-2) is the main VEGF receptor protein that was developed as an anti-cancer agent. This study aims to study in silico the activity of chemical compounds in licorice that can inhibit the VEGFR-2 receptor to treat breast cancer. Tests were carried out using the software Chemdraw, Chem3D, AutoDockTools 1.5.6., BIOVIA Discovery Studio 2021, and Ligandscout. Of the 16 liquorice plant compounds tested through the Lipinski rule of five, ADMETOX predictions, to molecular docking, Licochalcone B compound has potential as an anti-cancer with a Gibbs energy of -8.17 kcal/mol and an inhibition constant of 468.66 nM that interacts with the VEGFR-2 receptor on amino acid residues ASP A:1046, GLU A:885, CYS A:919, and GLU A:917.

Keywords: Breast cancer, Molecular docking, Licorice (*Glycyrrhiza glabra* L.), VEGFR-2

Studi *In-Silico* Tanaman Akar Manis (*Glycyrrhiza glabra* L.) terhadap Reseptor VEGFR-2 pada Kanker Payudara

Abstrak

Kanker payudara adalah suatu keganasan pada jaringan payudara yang berasal dari epitel duktus maupun lobusnya. Kanker payudara merupakan salah satu jenis kanker yang menjadi penyebab utama kematian kanker di Indonesia dan memiliki prevalensi tertinggi terjadi pada wanita. *Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2* (VEGFR-2) merupakan protein reseptor utama VEGF yang dikembangkan sebagai agen antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk studi *in silico* aktivitas senyawa kimia pada tanaman akar manis yang dapat menghambat reseptor VEGFR-2 untuk mengobati kanker payudara. Pengujian dilakukan menggunakan perangkat lunak *Chemdraw*, *Chem 3D*, *AutoDockTools 1.5.6.*, *BIOVIA Discovery Studio 2021*, dan *Ligandscout*. Dari 16 senyawa tanaman akar manis yang diuji melalui prediksi *lipinski rule of five*, prediksi ADMETOKS, hingga penambatan molekuler, didapatkan senyawa Licochalcone B yang memiliki potensi sebagai anti kanker dengan energi gibbs sebesar -8.17 Kkal/mol dan konstanta inhibisi sebesar 468.66 nM yang dapat berinteraksi dengan reseptor VEGFR-2 pada residu asam amino ASP A:1046, GLU A:885, CYS A:919, dan GLU A:917.

Kata Kunci: Akar manis, Kanker payudara, Penambatan molekuler, VEGFR-2

1. Pendahuluan

Kanker payudara adalah suatu keganasan pada jaringan payudara yang berasal dari epitel duktus maupun lobusnya.¹ Kanker payudara merupakan salah satu jenis kanker yang menjadi penyebab utama kematian kanker di Indonesia dan memiliki prevalensi tertinggi terjadi pada wanita.² Berdasarkan data dari GLOBOCAN tahun 2020, terdapat 65.858 dari 396.914 penduduk yang mengidap kanker payudara dengan angka kematian sebanyak 22.430 penduduk. Kanker payudara ini dapat terjadi karena adanya riwayat keluarga, faktor hormonal, mutasi gen yang terlibat dalam perbaikan DNA, gaya hidup yang kurang baik, dan faktor lingkungan.³ Oleh karena itu, perlu dilakukan pencegahan dan pengobatan agar angka kanker payudara di Indonesia dapat menurun.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Behelgardi, *et al.* tahun 2020, penghambatan pada *Vascular Endothelial Growth Factor Receptor* (VEGFR) secara efektif dapat menekan pertumbuhan tumor dan metastasis hingga dapat menjadi salah satu target baru yang dikembangkan sebagai pengobatan kanker payudara.⁴ VEGFR adalah bagian dari superfamili reseptor tirosin kinase yang terdiri dari 3 sub tipe yaitu, VEGFR-1 (Flt-1), VEGFR-2 (KDR), dan VEGFR-3 (Flt-4). VEGFR telah diidentifikasi sebagai target perbaikan yang sangat baik di antara target reseptor tirosin kinase yang tersedia untuk dikembangkan sebagai agen antikanker yang baru, terutama VEGFR-2.⁵ *Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2* (VEGFR-2) merupakan protein reseptor utama VEGF yang berperan penting untuk menstimulasi proliferasi sel endotel, mengatur perkembangan pembuluh darah dari sel prekursor selama embriogenesis, kemudian pembentukan pembuluh darah, dan meningkatkan permeabilitas vaskular pada saat proses angiogenesis.⁶

VEGFR-2 terdiri dari 1356 asam amino. Secara keseluruhan, struktur VEGFR mirip dengan struktur *Platelet-Derived Growth Factor Receptor* (PDGFR). Perbedaan dari kedua reseptor ini adalah domain ekstraselulernya,

PDGFR mengandung 5 domain seperti imunoglobulin (Ig), sedangkan VEGFR memiliki 7 domain.⁷ VEGFR-2 adalah reseptor VEGF yang berada di permukaan sel endotel pembuluh darah. Aktivasi jalur pensinyalan VEGFR-2 menjadi bagian penting pada jalur sinyal transduksi untuk menginisiasi angiogenesis dimana terjadi pembentukan pembuluh darah baru dari pembuluh darah yang telah ada. Proses angiogenesis yang tidak terkontrol dapat menyebabkan pertumbuhan tumor dan berisiko tinggi menjadi penyakit kanker. Penghambatan pada VEGFR-2 dapat menghambat proses angiogenesis.⁸

Obat-obatan yang telah digunakan sebagai pengobatan antikanker dengan target VEGFR-2 diantaranya adalah lucitanib dan sorafenib. Lucitanib dan sorafenib merupakan *inhibitor* tirosin kinase tipe II yang dikonsumsi secara oral dengan mekanisme kerja yaitu menghambat angiogenesis tumor dan proliferasi atau kelangsungan hidup sel tumor.⁹ Meskipun lucitanib dan sorafenib dapat menyebabkan kematian sel dan memperlambat pertumbuhan tumor, akan tetapi keduanya memiliki efek samping hipertensi yang tinggi dan sorafenib memiliki kelarutan dalam air yang tidak memuaskan.¹⁰⁻¹² Selain itu, seiring berkembangnya zaman, upaya pengembangan obat baru kini telah banyak mengarah kepada sistem herbal karena lebih dipercaya keamanan dengan tingkat toksisitas yang rendah dan minimnya efek samping. Dengan demikian, perlu untuk mengembangkan inhibitor VEGFR-2 baru sebagai pengobatan kanker payudara.

Salah satu tanaman yang telah menarik perhatian banyak peneliti pada beberapa tahun terakhir ini adalah akar manis (*Glycyrrhiza glabra* L.) dengan kandungannya yang kaya akan flavonoid seperti isoliquiritigenin, liquiritigenin, licochalcone, and glabridin. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa komponen ini mengandung sifat yang dapat menekan perluasan sel yang berasal dari kanker yang berbeda, seperti kanker lambung, kanker payudara, dan melanoma.¹³ Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Kwon, *et al.*, pada tahun 2013 menggunakan model kultur

hewan dan sel, tanaman akar manis memiliki aktivitas sebagai antikanker payudara pada dosis 5-20 mmol/L yang secara dependen menghambat migrasi dan invasi sel dengan adanya pengurangan pertumbuhan tumor dan metastasis pada tikus yang dikaitkan dengan pengurangan peradangan dan angiogenesis tumor. Selain itu kandungan flavonoid pada akar manis dapat menurunkan ekspresi CD31, reseptor VEGFR-2, siklooksigenase-2, dan merangsang sekresi penghambat jaringan metalloproteinase-2 dalam sel MDA-MB-231.¹⁴

Untuk mendapatkan kandidat senyawa baru sebagai obat antikanker terhadap reseptor VEGFR-2, dilakukan studi *in silico* pada tanaman akar manis dengan metode penambatan molekuler (*molecular docking*) menggunakan 16 senyawa dari akar manis dan 2 senyawa pembanding sebagai ligan uji.

2. Metode

2.1. Alat

Perangkat keras yang digunakan berupa laptop pribadi dengan spesifikasi processor Intel® Core™ i5-8265U CPU 16GB (8+8) DDR4 RAM dengan sistem operasi Windows 10 64-bit. Adapun beberapa website dan perangkat lunak yang digunakan selama proses studi *in-silico* ini antara lain:

1. PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) untuk mengunduh struktur senyawa bahan alam yang akan diuji
2. Program Chemdraw Ultra 12.0 untuk menggambar struktur senyawa atau ligan yang diujikan dan Chem3D Pro 12.0 untuk meminimalkan energi ligan
3. Protein Data Bank (<https://www.rcsb.org/>) untuk mengunduh protein target
4. SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>) untuk memprediksi Lipinski's Rule of Five dari senyawa pembanding dan senyawa uji
5. PreADMET (<https://preadmet.webservice.bmdrc.org/>) untuk memprediksi ADME dan Toksisitas senyawa pembanding dan senyawa uji
6. Program AutoDock Tools 1.5.6 untuk melakukan analisis penambatan molekuler
7. Program BIOVIA Discovery Studio 2020

untuk visualisasi kompleks pdb, ikatan antara ligan dengan reseptor VEGFR-2, dan validasi.

8. Program Ligandscout untuk menentukan pemodelan farmakofor.

2.2. Bahan

Bahan yang digunakan meliputi database protein VEGFR-2 dengan kode PDB ID 4ASE dan struktur tiga dimensi ligan alami dan senyawa pembanding serta senyawa uji yaitu, *quercetin*, *apigenin*, *eugenol*, *kaempferol*, *thymol*, *linalool*, *geraniol*, *glabridin*, *isoliquiritigenin*, *liquiritigenin*, *formononetin*, *pinocembrin*, *alpha-terpineol*, *carvacrol*, *licochalcone b*, dan *guaiaicol* yang telah dipreparasi menggunakan perangkat lunak ChemDraw Ultra 12.0 dan Chem3D Pro 12.0.

2.3. Prosedur Rinci

2.3.1. Prediksi Lipinski Rule of Five

Prediksi Lipinski Rule of Five dilakukan untuk mengetahui profil fisikokimia dari senyawa yang akan diuji agar dapat ditentukan kemampuan senyawa uji menjadi obat sediaan oral. Senyawa pembanding dan senyawa uji parameter digambar dalam bentuk struktur 2 dimensi menggunakan software ChemDraw Ultra 12.0 dan analisis melalui situs SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>). Parameter pengujian meliputi berat molekul, logP, ikatan hidrogen donor, dan ikatan hidrogen reseptor.

2.3.2. Penentuan ADMET

Penentuan ADMET (*Adsorption, Distribution, Metabolism, Excretion, Toxicology*) dilakukan untuk mengetahui profil fisikokimia serta toksisitas dari senyawa pembanding dan senyawa uji. Analisis dilakukan melalui situs PreADMET (<https://preadmet.bmdrc.kr/>). Parameter yang dianalisis dalam tahap ini antara lain nilai %HIA (*Human Intestinal Absorption*), Caco2 (*Cancer coli-2*), BBB (*Blood-Brain Barrier Penetration*), PPB (*Plasma Protein Binding*), serta hasil uji toksisitas dengan Ames Test dan Rodent Carcinogenicity.

2.3.3. Preparasi Ligan dan Reseptor

Protein target dengan PDB ID: 4ASE diunduh melalui *Protein Data Bank* (www.rcsb.org) dalam format .pdb. Ligan alami dan reseptor target dilakukan anhidrasi (menghilangkan molekul air) dan dipisahkan menggunakan aplikasi *BIOVIA Discovery Studio 2020*. Ligan uji dipreparasi dengan menggambar strukturnya menggunakan aplikasi *ChemDraw Ultra 12.0*. Kemudian, dilakukan minimalisasi energi menggunakan aplikasi *Chem3D Pro 12.0*. Preparasi ligan uji dan ligan alami serta reseptor dilanjutkan menggunakan aplikasi *AutoDockTools-1.5.6*. Ligan uji dan ligan alami diberikan muatan Gasteiger, ditambahkan atom hidrogen, digabungkan senyawa menjadi non polar, dan dilakukan penambahan torsi. Pada preparasi reseptor diberikan muatan Kollman dan ditambahkan atom hidrogen polar.

2.3.4. Simulasi Penambatan Molekuler

Simulasi penambatan molekuler diawali dengan proses validasi untuk menentukan posisi dan ukuran *grid box* yang akan digunakan. Validasi ini dilakukan dengan *re-docking* (menambatkan kembali) ligan alami pada reseptor menggunakan aplikasi *AutoDockTools-1.5.6*. Ukuran dan posisi *grid box* diatur hingga didapatkan nilai *Reference RMSD* yang bernilai $\leq 2 \text{ \AA}$ serta energi ikatan yang bernilai negatif atau semakin kecil pada nilai *Genetic Algorithm* Lamarckian sebesar 10. Pada penelitian ini, *grid box* yang digunakan bernilai sebagai berikut, *Grid Box* ($x = 48; y = 48; z = 56$), *Grid Coordinate* ($x = -22.792; y = 0.595; z = -10.261$) dengan jarak 0.375 \AA .

Berikutnya dilakukan simulasi penambatan molekuler ligan uji pada reseptor yang telah dipreparasi. Tahap ini dilakukan menggunakan tahapan yang sama seperti pada tahap validasi tetapi menggunakan nilai *Genetic Algorithm* Lamarckian sebesar 100. Hasil dianalisis menggunakan *AutoDockTools-1.5.6* untuk melihat energi ikatan dan konstanta inhibisi. Hasil penambatan dilakukan visualisasi menggunakan aplikasi *BIOVIA Discovery Studio 2020* untuk melihat interaksi ligan

dengan reseptor dalam bentuk visualisasi 2D dan 3D.

2.3.5. Pemodelan Farmakofor

Pemodelan farmakofor dilakukan untuk mengetahui senyawa *hit* yang dapat memberikan aktivitas farmakologi dengan adanya keberadaan gugus farmakofor. Proses memperbanyak senyawa aktif pada daftar *hit* dilakukan dengan membuat *Database Active/Decoy* (<https://dude.docking.org/targets>). Pada aplikasi *ligandscout*, semua tipe *active* dan *decoy* diubah menjadi *training* sedangkan semua tipe senyawa uji diubah menjadi *Test* dan laman dikosongkan. Selanjutnya, *file database active* yang telah diminimisasi dibuka dan didapatkan 1 tipe *training* di setiap *cluster*, lalu dibuat farmakofor.

Sebanyak 10 model farmakofor dipindahkan dengan fitur *copy to other perspective* ke *screening perspective* dan validasi dilakukan dengan menandai *database active* dengan warna hijau dan *decoy* dengan warna merah dan melihat serta memilih kurva ROC terbaik. *Skrining* farmakofor dilakukan dengan memasukkan *database* senyawa uji dan memberi tanda hijau pada *database* senyawa uji serta menghilangkan tanda warna pada *database* lain. Senyawa yang *hit* didapatkan setelah memindahkan model terbaik ke *Screening perspective* lalu *Perform Screening*.

3. Hasil

3.1. Prediksi Lipinski's Rule of Five

Hasil pengujian berdasarkan prediksi *Lipinski's Rule of Five* tercantum pada Tabel 1. Dapat diinterpretasikan bahwa terdapat 16 senyawa tanaman akar manis (*Glycyrrhiza glabra*) dan 2 senyawa pembanding, yaitu lucitanib dan sorafenib, yang telah memenuhi kriteria *Rule of Five* (RO5) sehingga dapat dijadikan sebagai kandidat obat oral.

3.2. Penentuan ADMETOKS

Penentuan ADMETOKS dilakukan pada senyawa yang telah memenuhi prediksi lipinski seperti yang tercantum pada Tabel 2. Dari 16 senyawa, 15 diantaranya memenuhi nilai HIA yang baik yaitu memenuhi syarat 70-100%. Namun, tidak ada senyawa yang memenuhi

Tabel 1. Hasil Prediksi Lipinski's Rule of Five (RO5)

No.	Nama Senyawa	Berat Molekul	Binding energy (kcal/mol)	Ki		Drug likeness
				Donor (<5)	Akseptor (< 10)	
1.	Lucitanib	443.49	3.58	2	6	yes
2.	Sorafenib	464.82	4.11	3	7	yes
3.	Quercetin	302.24	1.23	5	7	yes
4.	Apigenin	270.24	2.11	3	5	yes
5.	Eugenol	164.20	2.25	1	2	yes
6.	Kaempferol	286.24	1.58	4	6	yes
7.	Thymol	150.22	2.80	1	1	yes
8.	Linalool	154.25	2.66	1	1	yes
9.	Geraniol	154.25	2.74	1	1	yes
10.	Glabridin	324.37	3.45	2	4	yes
11.	Isoliquiritigenin	256.25	2.37	3	4	yes
12.	Liquiritigenin	256.25	2.07	2	4	yes
13.	Formononetin	268.26	2.66	1	4	yes
14.	Pinocembrin	256.25	2.26	2	4	yes
15.	Alpha-Terpineol	154.25	2.58	1	1	yes
16.	Carvacrol	150.22	2.82	1	1	yes
17.	Licochalcone B	286.28	2.14	3	5	yes
18.	Guaiacol	124.14	1.40	1	2	yes

Tabel 2. Hasil Prediksi ADMETOKS

No.	Nama Senyawa	Absorpsi		Distribusi		Toksistas		
		HIA (%)	Caco-2 (nm/sec)	PPB (%)	BBB	Mutagen	Karsinogen	
							Mencit	Tikus
1.	Lucitanib	96.01	24.81	74.66	0.012	non-mutagen	-	-
2.	Sorafenib	93.50	22.56	89.86	1.00	mutagen	+	-
3.	Quercetin	63.48	3.41	93.23	0.17	mutagen	-	+
4.	Apigenin	88.12	10.55	97.25	0.57	mutagen	+	+
5.	Eugenol	96.77	46.89	100	2.26	mutagen	+	+
6.	Kaempferol	79.44	9.58	89.61	0.29	mutagen	-	+
7.	Thymol	100	38.01	100	6.39	mutagen	-	-
8.	Linalool	100	29.35	100	6.12	mutagen	-	-
9.	Geraniol	100	8.75	100	6.74	mutagen	+	-
10.	Glabridin	93.62	20.53	100	2.06	non-mutagen	-	-
11.	Isoliquiritigenin	88.30	20.15	98.25	1.13	mutagen	+	-
12.	Liquiritigenin	92.36	17.65	97.99	0.64	mutagen	-	+
13.	Formononetin	95.55	7.6	85.08	0.06	mutagen	-	+
14.	Pinocembrin	92.35	2.47	98.45	0.90	mutagen	-	-

Tabel 2. Hasil Prediksi ADMETOKS

No.	Nama Senyawa	Absorpsi		Distribusi		Toksistas		
		HIA (%)	Caco-2 (nm/sec)	PPB (%)	BBB	Mutagen	Karsinogen	
							Mencit	Tikus
15.	<i>alpha-Terpineol</i>	100	50.8	23.41	5.11	mutagen	-	-
16.	Carvacrol	100	38	100	6.39	mutagen	-	-
17.	Licochalcone B	88.51	18.50	91.58	0.53	mutagen	+	+
18.	Guaiacol	96.46	29.43	99.17	0.89	mutagen	+	+

persyaratan Caco-2 yang menunjukkan permeabilitas tinggi dengan nilai >70 nm/sec. Selain itu, terdapat 13 senyawa dengan nilai $PBB > 90\%$ yang menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki ikatan yang kuat. Untuk nilai BBB, 7 senyawa memenuhi syarat $>2,0$ yang menunjukkan senyawa memiliki penetrasi yang baik ke SSP, 8 senyawa memiliki nilai 2,0-0,1 menunjukkan senyawa memiliki penetrasi yang cukup baik ke SSP, dan 1 senyawa memiliki nilai $<0,1$ menunjukkan senyawa tidak memiliki target pada SSP. Pada hasil prediksi toksistas terdapat 1 senyawa bersifat non-mutagen. Terdapat 6 senyawa yang tidak bersifat karsinogen pada tikus dan mencit.

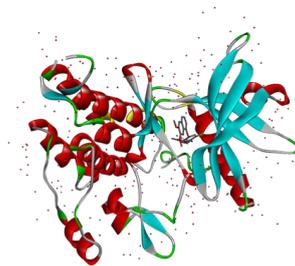
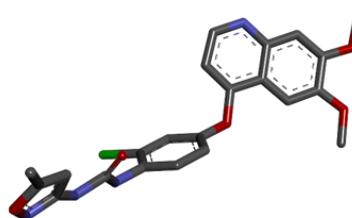
3.3. Preparasi Ligan dan Reseptor

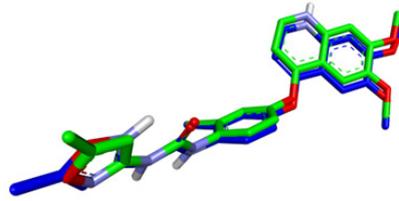
Preparasi dilakukan terhadap reseptor yaitu enzim VEGFR-2 dengan PDB ID 4ASE dan ligan alami Tivozanib serta ligan uji

dari tanaman akar manis. Protein target 4ASE dapat dilihat pada Gambar 1 yang di dalamnya terdapat suatu ligan alami Tivozanib. Ligan alami Tivozanib ditampilkan pada Gambar 2.

3.4. Preparasi Ligan dan Reseptor

Validasi dilakukan dengan cara melakukan penambatan kembali antara reseptor VEGFR-2 (PDB ID : 4ASE) dan ligan alaminya yaitu tivozanib yang telah dipisahkan dari protein kompleksnya dengan proses preparasi reseptor dan ligan. Proses penambatan kembali dilakukan dengan menggunakan *AutoDock Tools 1.5.6* dengan *gridbox* $X=48$; $Y=48$; $Z=56$ dan *grid coordinate* $X=-22,792$; $Y=0,59$; dan $Z=-10$. Hasil validasi ditunjukkan dengan visualisasi hasil *overlay* yang baik seperti Gambar 3 dan nilai $RMSD < 2 \text{ \AA}$, yang menandakan bahwa hasilnya telah *valid*.

**Gambar 1.** Struktur Enzim VEGFR-2 (PDB ID: 4ASE)**Gambar 2.** Struktur Ligan Alami VEGFR-2

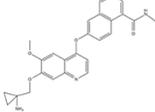
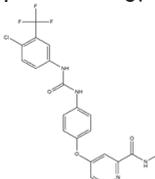


Gambar 3. Visualisasi Hasil Overlay Tivozanib

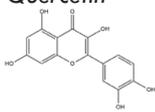
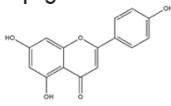
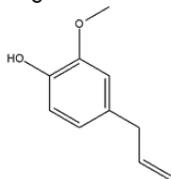
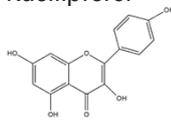
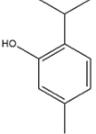
Penambatan molekuler antara 16 senyawa tanaman akar manis dengan reseptor VEGFR-2 menunjukkan hasil bahwa banyak ligan yang dapat berinteraksi pada residu asam amino ASP A:1046, GLU A:885, CYS A:919, ataupun GLU A:917 kecuali geraniol, glabridin, isoliquiritigenin dan liquiritigenin. Dari enam belas senyawa uji tersebut seperti yang terlampir pada Tabel 3, senyawa dengan energi Gibbs terendah

adalah senyawa kuersetin yaitu sebesar -8,77 kkal/mol dan K_i 347.85 nM kemudian diikuti dengan kaempferol, formonetin, apigenin, dan licochalcone B. Tahapan selanjutnya, hasil simulasi penambatan molekuler dan senyawa terbaik yang didapat akan divisualisasikan secara 2D dan 3D melalui aplikasi *BIOVIA Discovery Studio 2020* yang dapat dilihat pada Tabel 4.

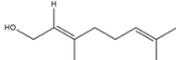
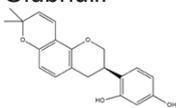
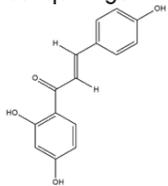
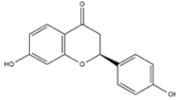
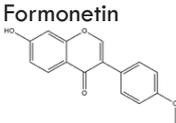
Tabel 3. Luaran Simulasi Penambatan Molekuler

No	Senyawa & Struktur	Cluster Rank	Binding energy (kkal/mol)	K_i	Interaksi dengan asam amino	
					Ikatan hidrogen	Lain-lain
1.	Lucitanib (senyawa pembanding) 	5	-9.55	4.79 nM	ASN A:923 GLU A:885 GLU A:917	Carbon Hydrogen Bond LEU A:922 Pi-sigma LEU A:1035 Amide-Pi Stacked PHE A:921 Alkyl, Pi-Alkyl PHE A:1047 VAL A:848 CYS A:919 ALA A:866 LYS A:868 VAL A:916 VAL A:899 CYS A:1045 LEU A:889
2.	Sorafenib (senyawa pembanding) 	5	-9.54	22.05 nM	ASN A:923 ASP A:1046 CYS A:919	Carbon Hydrogen Bond GLU A:885 GLY A:922 Pi-sigma VAL A:848 Alkyl, Pi-Alkyl LEU A:889 LEU A:840 ALA A:866

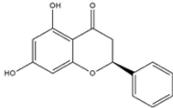
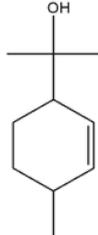
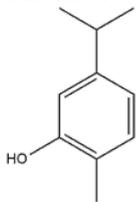
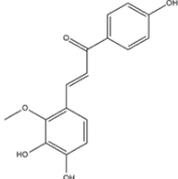
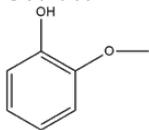
Tabel 3. Luaran Simulasi Penambatan Molekuler

No	Senyawa & Struktur	Cluster Rank	Binding energy (kkal/mol)	Ki	Interaksi dengan asam amino	
					Ikatan hidrogen	Lain-lain
3.	Quercetin 	1	-8.77	347.85 nM	ASP A:1046 CYS A:919 GLU A:917	VAL A:916) Pi-sigma LEU A:840 LEU A:1035 Pi-Alkyl VAL A:848 ALA A:866 CYS A:1045 VAL A:899 VAL A:916
4.	Apigenin 	1	-8.29	776.94 nM	CYS A:919 GLU A:885 LYS A:868	Pi-sigma LEU A:840 Pi-Pi Ti-Shaped PHE A:047 Pi-Alkyl VAL A:899 VAL A:916 VAL A:848 ALA A:866 LEU A:1035
5.	Eugenol 	1	-5.49	58.94 μ M	ASP A:1046	Carbon Hydrogen Bond GLU A:885 Alkyl, Pi-Alkyl ALA A:866 LEU A:1035 VAL A:916 CYS A:919 VAL A:848 LYS A:868 CYS A:1045 VAL A:899
6.	Kaempferol 	1	-8.65	453.11 nM	ASP A:1046 CYS A:919 GLU A:917	Carbon Hydrogen Bond CYS A: 1045 Pi-Sigma LEU A:840 LEU A:1035 Pi-Pi T-Shaped PHE A:1047 Pi-Alkyl VAL A:848 ALA A:866 VAL A:899 VAL A:916
7.	Thymol 	1	-5.71	65.71 μ M	CYS A:919 GLU A:917	Pi-Sigma LEU A:1035 Alkyl, Pi-Alkyl PHE A:918 ALA A:866 VAL A:848

Tabel 3. Luaran Simulasi Penambatan Molekuler

No	Senyawa & Struktur	Cluster Rank	Binding energy (kkal/mol)	Ki	Interaksi dengan asam amino	
					Ikatan hidrogen	Lain-lain
8.	Linalool 	1	-5.23	145.94 μM	ASP A:1046	VAL A:916 Alkyl, Pi-Alkyl ALA A:866 VAL A:916 VAL A:899 CYS A:919 PHE A:1047 LEUA:1035 VAL A:848 CYS A:1045 LYS A:868
9.	Geraniol 	2	-4.02	454.41 μM	ASP A:1129	Carbon Hydrogen Bond SER A:1100 Alkyl, Pi-Alkyl ALA A:1103 PRO A:1107 ARG A:1126 MET A:1125 PRO A:1138 TRP A:1096
10.	Glabridin 	2	-6.21	16.29 μM	ALA A:1127 ASP A:1129 ARG A:932	Pi-Sigma ALA A:1103 Pi-Pi T-Shaped TRP A:1096 Alkyl PRO A:1107
11.	Isoliquiritigenin 	1	-5.46	25.28 μM	ARG A:1126 ASP A:1129 ARG A:932	Pi-Pi T-Shaped TRP A:1096 Pi-Alkyl PRO A:1107 PRO A:1128 ALA A:1103
12.	Liquiritigenin 	5	-4.89	73.48 μM	SER A:1104 SER A:1100	Pi-Anion ASP A:1129 Pi-Sigma ALA A:1103 Pi-Alkyl PRO A:1107
13.	Formononetin 	1	-8.44	649.09 nM	CYS A:919	Pi-Sigma LEU A:840 LEU A:1035 VAL A: 916 Pi-Sulfur CYS A:1045 Pi-Pi T-Shaped PHE A:918 Alkyl, Pi-Alkyl ALA A:866

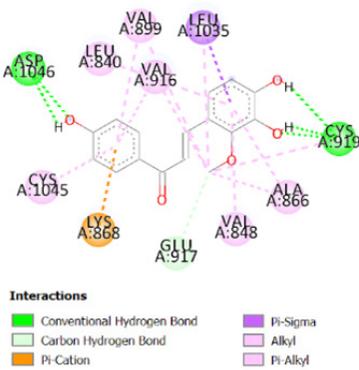
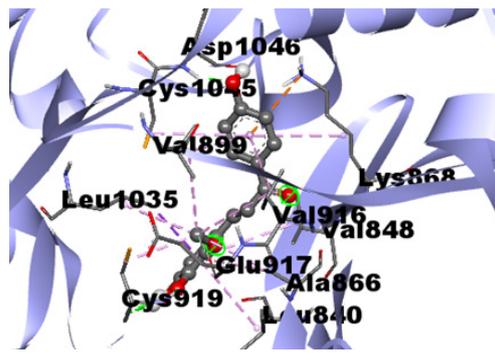
Tabel 3. Luaran Simulasi Penambatan Molekuler

No	Senyawa & Struktur	Cluster Rank	Binding energy (kkal/mol)	Ki	Interaksi dengan asam amino	
					Ikatan hidrogen	Lain-lain
14.	Pinocembrin 	1	-7.93	1.53 μ M	CYS A:919	VAI A:848 VAI A: 899 VAI A:914 LYS A:868 Pi-Sigma LEU A:840 Pi-Alkyl LEU A:1035 ALA A:866 VAI A:848 LYS A:868 CYS A:1045
15.	Alpha-Terpineol 	1	-5.64	73.57 μ M	GLU A:885	Unfavorable Acceptor ASP A:1046 Alkyl, Pi-Alkyl LEU A: 889 LYS A: 868 VAI A:914 VAI A:916 CYS A:1045 VAI A:899 PHE A:1047 VAI A:848 LEU A:1035
16.	Carvacrol 	1	-5.81	55.08 μ M	CYS A:919 GLU A:917	Pi-Sigma LEU A:1035 Alkyl, Pi-Alkyl PHE A:918 LEU A:840 VAL A:848 VAL A:916 ALA A:866
17.	Licochalcone B 	1	-8.17	468.66 nM	ASP A:1046 CYS A:919	Conventional Hydrogen Bond GLU:917 Pi-Cation LYS A:868 Pi-Sigma LEU A:1035 Alkyl, Pi-Alkyl LEU A:840 VAL A:899 VAL A:916 CYS A:1045 VAL A:848 ALA A:866
18.	Guaiacol 	1	-4.86	269.89 μ M	ASP A:1046	Conventional Hydrogen Bond GLU:885 Alkyl, Pi-Alkyl CYS A:1045

Tabel 3. Luaran Simulasi Penambatan Molekuler

No	Senyawa & Struktur	Cluster Rank	Binding energy (kkal/mol)	Ki	Interaksi dengan asam amino	
					Ikatan hidrogen	Lain-lain
						VAL A:899 VAL A:848

Tabel 4. Luaran Simulasi Penambatan Molekuler

Visualisasi 2D	Visualisasi 3D
	

3.5. Preparasi Ligan dan Reseptor

Pemodelan farmakofor yang dibuat adalah reseptor VEGFR-2 (PDB ID : 2P2I) dengan ligan alami yang tertambat yaitu *N*-(-4-phenoxyphenyl)-2-[(pyridin-2-ylmethyl)amion]nicotinamide. Penggunaan reseptor ini disesuaikan dengan ketersediaan pada website <https://www.dude.docking.org> yang nantinya akan digunakan untuk penentuan farmakofor pada 16 senyawa dari tanaman akar manis agar dapat mengetahui ligan uji manakah yang gugus fungsinya memiliki interaksi paling mirip dengan ligan alaminya.

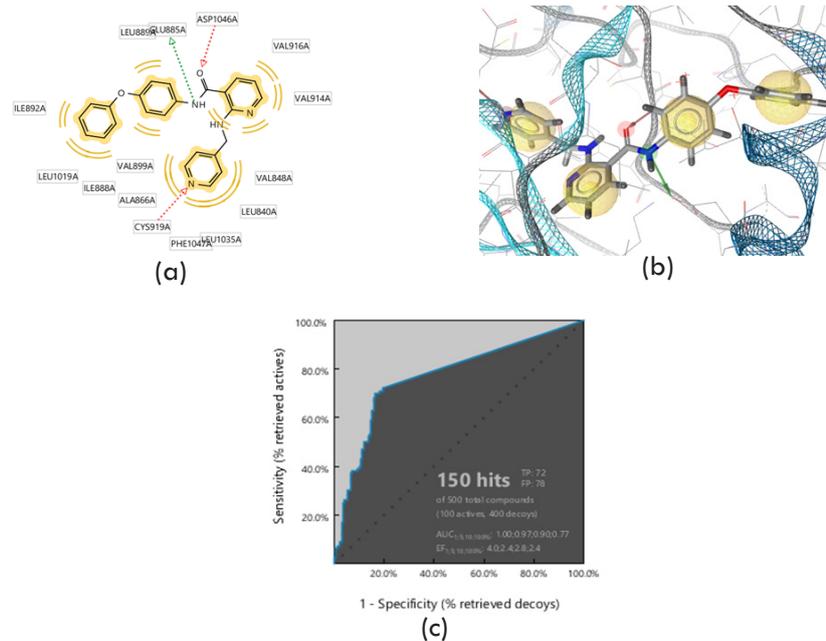
Berdasarkan 10 model yang didapat, model 3 (Gambar 4c) dengan nilai AUC sebesar 77% yang digunakan untuk menentukan farmakofor 16 senyawa dari tanaman akar manis dan didapatkan 3 senyawa yang memiliki gugus dengan interaksi paling mirip seperti ligan alaminya yaitu licochalcone B, guaiacol, dan eugenol dengan *pharmacophore fit score* secara berurutan yaitu 45,78; 45,61; dan 45,62. Pada hasil visualisasi seperti Gambar 4b, panah hijau pada asam amino GLU A:885 menunjukkan adanya donor ikatan hidrogen, panah merah pada asam amino ASP A:1046 dan CYS A:919 menunjukkan adanya akseptor ikatan

hidrogen, dan bola kuning menunjukkan adanya interaksi hidrofobik.

4. Pembahasan

Penambatan molekuler (*molecular docking*) adalah suatu teknik kimia komputasi yang digunakan untuk menemukan kandidat senyawa baru sebagai pengobatan yang didasarkan pada interaksi antara reseptor, dapat berupa protein, DNA, atau RNA, dengan senyawa tertentu yang berperan sebagai ligan. Metode ini biasa disebut juga dengan studi *in silico* dan telah banyak digunakan dalam pengembangan obat baru, terutama obat antikanker, karena dapat memberikan informasi awal yang sangat bermanfaat tanpa harus melakukan *trial and error*. Penelitian ini dilakukan untuk menemukan kandidat senyawa baru yang dapat digunakan sebagai obat antikanker dari tanaman akar manis yang dikonsumsi secara oral dengan target kerja pada reseptor VEGFR-2.

Lipinski's Rule of Five (RO5) merupakan seperangkat pedoman *in silico* yang diterapkan dalam penemuan obat untuk memprioritaskan senyawa dengan potensi penyerapan oral yang tinggi. Menurut pedoman RO5, senyawa



Gambar 4. Hasil Pemodelan Farmakofor 2D (a) dan 3D (b) (PDB ID : 2P21) ; (c) Kurva Validasi (Kurva ROC Model 3)

yang berpotensi menjadi obat oral memiliki tidak lebih dari satu pelanggaran dari kriteria berikut: berat molekul <500 Da, jumlah ikatan donor hidrogen <5 , jumlah ikatan akseptor hidrogen <10 , dan nilai $\log P < 5.15$ Log P berhubungan dengan lipofilisitas senyawa dan berguna untuk prediksi absorpsi obat melalui epitel usus.¹⁶ Ikatan hidrogen berperan penting dalam partisi obat dan permeabilitas. Namun, donor/akseptor ikatan hidrogen yang terlalu banyak dapat merusak partisi dan permeabilitas membran obat. Gugus polar ini dapat menurunkan afinitas terhadap daerah membran hidrofobik dan juga meningkatkan hukuman desolvasi air pada penetrasi obat.¹⁷ Peningkatan berat molekul telah berkorelasi dengan penurunan tingkat permeasi dalam *lipid bilayer*. Senyawa dengan berat molekul yang lebih tinggi memiliki kemungkinan yang lebih kecil untuk aktif secara oral dibandingkan dengan senyawa yang memiliki berat molekul yang lebih rendah.¹⁵ Berdasarkan hasil analisis yang tertera pada Tabel 1, dapat diinterpretasikan bahwa terdapat 16 senyawa pada tanaman akar manis (*Glycyrrhiza glabra*) yang memenuhi keempat kriteria *Rule of Five* (RO5). Hal ini menunjukkan bahwa senyawa-senyawa tersebut memiliki potensi untuk digunakan sebagai sediaan oral.

Pengembangan obat yang dapat

dikonsumsi secara oral juga melibatkan penilaian absorpsi, distribusi, dan toksisitas senyawa obat. Untuk mengeliminasi senyawa yang kemungkinan besar akan gagal, dilakukan prediksi ADMETOKS yang dapat mengevaluasi sifat farmakokinetik senyawa-senyawa tersebut.¹⁸ Pada proses absorpsi, terdapat dua parameter keberhasilan, yaitu *Human Intestinal Absorption* (HIA) dan *CaCO-2*. HIA merupakan parameter yang mengukur kemampuan suatu senyawa untuk diserap oleh usus dengan membandingkan rasio ekskresi dalam urin, empedu, dan feses. Kisaran nilai HIA yang menunjukkan absorpsi yang baik adalah 70-100%, sementara nilai antara 20-70% menunjukkan absorpsi yang sedang, dan nilai dibawah 20% menunjukkan absorpsi yang buruk. Berdasarkan hasil analisis yang tertera pada Tabel 2 menunjukkan bahwa dari 16 senyawa yang diuji, 15 diantaranya menunjukkan tingkat absorpsi yang baik dan 1 senyawa yaitu *quercetin*, memiliki tingkat absorpsi yang sedang dengan nilai 63.48%. Nilai *CaCO-2* mengindikasikan kemampuan permeabilitas sel *CaCO-2* yang berasal dari adenokarsinoma usus besar manusia melalui model *in vitro*. Permeabilitas yang tinggi ditunjukkan oleh nilai *CaCO-2* di atas 70 nm/sec, sementara nilai antara 4-70 nm/sec menunjukkan permeabilitas

yang sedang, dan nilai dibawah 4 nm/sec menunjukkan permeabilitas yang rendah. Dari 16 senyawa yang diuji, tidak ada senyawa yang memiliki permeabilitas yang tinggi yang mana 14 diantaranya menunjukkan tingkat permeabilitas yang sedang, sementara 2 senyawa yaitu *quercetin* dan *pinocembrin* menunjukkan tingkat permeabilitas yang rendah dengan masing-masing nilai 3.41 dan 2.47. Dari hasil prediksi yang didapatkan, menunjukkan bahwa sebagian besar senyawa uji memiliki absorpsi yang baik dan permeabilitas yang sedang. Namun, terdapat satu senyawa obat, yaitu *quercetin*, yang menunjukkan absorpsi yang sedang dan permeabilitas yang rendah.

Pada proses distribusi, yang menjadi parameter keberhasilan adalah *Plasma Protein Binding* (PPB) dan *Blood Brain Barrier* (BBB). PPB merupakan parameter yang menggambarkan persentase jumlah senyawa yang dapat terikat pada protein plasma, semakin besar nilai PPB maka semakin sedikit jumlah senyawa yang dapat berikatan. Nilai PPB yang lebih dari 90% menunjukkan ikatan yang kuat sedangkan nilai yang kurang dari 90% menunjukkan ikatan yang lemah. Dari hasil pengujian, terdapat 3 senyawa yang memiliki ikatan lemah yaitu *kaempferol*, *formononetin*, dan *alpha-Terpineol*, sementara 13 senyawa lainnya memiliki ikatan yang kuat. Lain halnya dengan BBB, parameter ini menggambarkan apakah senyawa dapat terdistribusi melewati sawar darah otak. Untuk obat yang dikonsumsi secara oral, diharapkan memiliki nilai BBB yang rendah untuk menghindari efek samping. Nilai BBB yang kurang dari 0,1 menunjukkan kemampuan penetrasi SSP yang rendah, nilai 0,1 - 2 sedang, dan lebih dari 2 tinggi.¹⁹ Pada prediksi BBB terdapat 1 senyawa memiliki kemampuan penetrasi SSP yang rendah dan cocok untuk digunakan sebagai obat yang tidak memiliki target pada SSP yaitu *formononetin*. Terdapat 8 senyawa yang memiliki kemampuan penetrasi sedang dan 7 senyawa yang memiliki kemampuan penetrasi tinggi. Hasil prediksi toksisitas menunjukkan terdapat 1 senyawa bersifat non-mutagen. Terdapat 6 senyawa yang tidak bersifat karsinogen pada tikus dan mencit. Berdasarkan

hasil keseluruhan prediksi ADMETOKS, senyawa yang berpotensi sebagai kandidat obat oral adalah *apigenin*, *licochalcone B*, *guaiacol*, *liquiritigenin*, dan *isoliquiritigenin* karena memenuhi seluruh persyaratan yang baik.

Validasi penambatan molekuler merupakan tahap awal yang perlu dilakukan sebelum melakukan *docking* antara reseptor dengan senyawa pada tanaman sebagai ligan untuk mengetahui. Validasi dilakukan dengan cara melakukan penambatan kembali antara reseptor VEGFR-2 (PDB ID : 4ASE) dan ligan alaminya yaitu *tivozanib* yang telah dipisahkan dari protein kompleksnya dengan proses preparasi reseptor dan ligan. *Tivozanib* adalah *inhibitor* tirosin kinase yang diformulasikan untuk pengobatan karsinoma sel ginjal dengan mekanisme kerja yang menghambat fosforilasi reseptor VEGFR-1, VEGFR-2, dan VEGFR-3 serta menghambat kinase lain seperti *platelet-derived growth factor receptor* (PDGFR). Reseptor VEGFR-2 dengan kode *protein data bank* 4ASE merupakan reseptor jenis homosapiens yang digambarkan menggunakan metode *X-ray diffraction* dan memiliki resolusi sebesar 1,83 Å²⁰. Pemilihan reseptor didasarkan pada jenis organisme dan hasil resolusinya.

Untuk melengkapi residu asam amino pada reseptor yang mungkin telah kehilangan atom hidrogen akibat kerusakan struktur asam amino ketika preparasi dengan metode *X-ray diffraction*, maka dilakukanlah penambahan atom hidrogen. Selain itu, reseptor ditambahkan muatan Kollman agar residu asam amino memiliki muatan dalam bentuk *energy* potensial elektrostatik yang didasarkan pada perhitungan mekanika kuantum.²¹ Atom hidrogen yang memiliki peran penting pada penambatan molekuler adalah *hydrogen* yang bersifat polar, karena *hydrogen* ini yang terlibat dalam ikatan hidrogen. Lain halnya dengan reseptor, muatan yang ditambahkan pada ligan adalah muatan Gasteiger. Penambahan muatan ini bertujuan untuk penyesuaian kondisi dengan lingkungan penambatan molekuler agar didapatkan hasil perhitungan yang benar.²¹

Parameter hasil validasi penambatan

molekuler ada pada nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD). Parameter ini menunjukkan bahwa semakin kecil nilai RMSD, maka semakin akurat hasil perhitungannya karena kesalahan atau penyimpangan pada perhitungan kecil. Sedangkan semakin besar nilai RMSD, maka semakin besar penyimpangan yang didapatkan pada suatu perhitungan. Nilai RMSD yang diharapkan adalah kurang dari 2 Å. Proses penambatan kembali dilakukan dengan menggunakan *AutoDock Tools 1.5.6* dengan *gridbox* X= 48 Y=48, Z=56 dan *grid coordinate* X=-22,792, Y=0,595, dan Z=-10. *Grid address* (*gridbox* dan *grid coordinate*) merupakan hal yang penting dalam proses penambatan molekuler karena akan menjadi koordinat titik yang menjadi tempat interaksi antara ligan dan reseptor. Hasil yang didapatkan dari validasi penambatan kembali antara reseptor VEGFR-2 dengan ligan tivozanib menunjukkan hasil yang baik dengan visualisasi hasil *overlay* dan nilai RMSD yang kurang dari 2 Å, yang menandakan bahwa hasilnya telah *valid*. *Grid address* ini selanjutnya dapat digunakan untuk melakukan *docking* antara reseptor VEGFR-2 dan senyawa dari tanaman akar manis sebagai ligan.

Jika dilihat dari pengujian interaksi Tivozanib dan reseptor VEGFR-2 dan yang dilakukan oleh Kajal (2019)²³ didapatkan residu asam amino kunci kantung adenin (Glu-917 dan Cys-919) dan kantung hidrofobik (Glu-885 dan Asp-1046) dan residu asam amino inilah yang dalam pendesainan obat sebaiknya di targetkan dengan aktivitas *inhibitor* ATP pada VEGFR-2. Tivozanib sendiri merupakan ligan alami pada VEGFR-2 pada kode PDB 4ASE. Tivozanib digunakan dalam pengobatan untuk pengobatan sel karsinoma dengan mekanisme kerja sebagai *inhibitor* kinase dengan menghalangi aksi protein abnormal yang memberi sinyal sel kanker untuk berkembang biak. Hasil penambatan Tivozanib pada reseptor VEGFR-2 yang kami lakukan pun menghasilkan residu asam amino kunci, yaitu ASP A:1046, GLU A:885, CYS A:919, dan GLU A:917. Dari hasil simulasi penambatan pada Tabel 3 dari 16 senyawa uji terdapat 12 senyawa yang memiliki residu asam amino yang sama kecuali senyawa

geraniol, glabridin, isoliquiritigenin dan liquiritigenin. Hal ini dapat diartikan bahwa sisi aktif atau kantung tempat ligan alami dan senyawa-senyawa tersebut berikatan pada tempat yang sama dan diharapkan mampu memberikan afinitas yang sama dalam menghambat kerja reseptor VEGFR-2.

Setelah dilakukan simulasi penambatan molekuler dengan senyawa uji maka akan didapatkan juga nilai energi bebas ikatan (ΔG) dan konstanta inhibisi (K_i) yang menunjukkan afinitas antara ligan uji dengan protein. Nilai energi bebas ikatan (ΔG) merupakan parameter kestabilan konformasi antara ligan dengan enzim. Semakin kecil nilai energi bebas ikatan (ΔG), maka interaksi antara ligan dengan enzim akan semakin stabil. Pada Tabel 3 terdapat senyawa-senyawa yang memiliki nilai ΔG dan K_i terendah, yaitu kaempferol, formonetin, apigenin, dan licochalcone B, dan kuersetin. Dengan nilai terendah dimiliki oleh kuersetin, yaitu sebesar -8,77 kkal/mol dan K_i 347.85 μM .

Tahap terakhir yang dilakukan pada pengujian ini adalah pemodelan dan skrining farmakofor menggunakan *software Ligandscout*. Pemodelan dan skrining farmakofor ini berfungsi untuk mengetahui gugus fungsi bagian mana yang memiliki interaksi dengan reseptor target agar dapat dilakukan modifikasi pada gugus fungsi lainnya untuk meningkatkan ataupun memperbaiki aktivitas suatu senyawa yang menjadi kandidat obat, serta mengetahui senyawa mana yang memiliki aktivitas hampir mirip dengan ligan alaminya. Ligan standar untuk reseptor VEGFR-2 dengan kode PDB 2P2I memiliki berat molekul sebesar 396,450 dengan beberapa parameter farmakofor yaitu nilai log P sebesar 4,617, 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 seperti Gambar 4a,4b diketahui bahwa ligan standar memenuhi kelima hukum Lipinski, yaitu berat molekul ligan standar di bawah 500 Da yang dapat dikatakan mudah berdifusi melalui membran sel, nilai log P yang menunjukkan

bahwa selektivitas untuk mengikat protein target masih baik dan molekul masih dapat menembus membran *lipid bilayer* serta jumlah donor dan akseptor ikatan hidrogen dari protein target masing-masing adalah 1 dan 2 yang menyatakan bahwa semakin rendah kapasitas ikatan hidrogen, maka semakin rendah pula energi yang dibutuhkan untuk mengabsorpsi zat aktif.²⁴

Setelah tahap pemodelan selesai, dilanjutkan pada tahap skrining farmakofor yang dimulai dengan proses validasi. Validasi ini bertujuan untuk melihat akurasi perbedaan antara senyawa *active* dan *decoy* (inaktif). Hasil pemodelan farmakofor yang baik dapat mengidentifikasi senyawa *active* secara maksimum dan mengidentifikasi *decoy* secara minimum. Pada proses validasi, digunakan 500 senyawa yang terdiri dari 100 senyawa *active* dan 400 senyawa *decoy*. Hasil validasi, seperti yang terlihat pada Gambar 4c menunjukkan bahwa terdapat 150 senyawa hit terbaik dengan nilai *Area Under Curve* (AUC) sebesar 77% yang menyatakan metode ini valid dan dapat digunakan karena memenuhi persyaratan nilai AUC yaitu $\geq 70\%$.²⁵ Selanjutnya dilakukan pengujian pada 18 senyawa dari tanaman akar manis dan didapatkan 3 senyawa *hit*, yaitu licochalcone B, guaiaicol, dan eugenol, yang diprediksi memiliki ikatan kemiripan ikatan dengan ligan alami sehingga dapat berikatan dengan reseptor VEGFR-2. Senyawa terbaik pada hasil skrining farmakofor adalah licochalcone B karena memiliki nilai *pharmacophore fit score* terbaik yaitu sebesar 45,78.

5. Kesimpulan

Telah dilakukan penelitian studi *in silico* tanaman akar manis (*Glycyrrhiza glabra*) terhadap reseptor VEGFR-2 menggunakan perangkat lunak *ChemOffice 2010*, *AutoDock Tools 1.5.6*, *BIOVIA Discovery Studio 2020*, dan *Ligandscout*. Berdasarkan penelitian didapatkan hasil yaitu terdapat 16 dari 16 senyawa tanaman akar manis (*Glycyrrhiza glabra*) telah memenuhi syarat *Rule of Five* (RO5) sehingga dapat dijadikan sebagai kandidat obat oral. Sedangkan pada tahap ADMETOKS terdapat 15 senyawa yang

memenuhi persyaratan HIA, 1 senyawa yang tidak memenuhi persyaratan Caco-2, 12 senyawa memenuhi persyaratan PPB, 8 senyawa yang memenuhi persyaratan BBB, 1 senyawa yang bersifat non-mutagen, dan terdapat 6 senyawa yang tidak bersifat karsinogen. Dari hasil *lipinski rule of five*, prediksi ADMETOKS, hingga penambatan molekuler, didapatkan bahwa senyawa Licochalcone B yang memiliki potensi sebagai anti kanker dibandingkan dengan senyawa uji lain. Licochalcone B memiliki energi gibbs sebesar -8.17 kcal/mol dan memiliki aktivitas penghambatan yang cukup baik dengan nilai konstanta inhibisi (KI) sebesar 468.66 nM yang berinteraksi dengan reseptor VEGFR-2 pada residu asam amino yang sama dengan ligan alami Tivozanib yaitu ASP A:1046, GLU A:885, CYS A:919, dan GLU A:917. Tanaman akar manis (*Glycyrrhiza glabra*) menunjukkan potensi untuk menjadi obat antikanker, namun perlu dilakukan penelitian yang lebih lanjut mengenai isolasi senyawa aktif dan dilanjutkan pengujian secara *in vitro* maupun *in vivo*.

Daftar Pustaka

1. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Panduan Penatalaksanaan Kanker Payudara [diunduh 06 Maret 2022]. Tersedia dari: <http://kanker.kemkes.go.id/guidelines/PPKPayudara.pdf>.
2. Shah R, Rosso K, Nathanson SD. Pathogenesis, prevention, diagnosis and treatment of breast cancer. *World journal of clinical oncology*. 2014;5(3):283.
3. Harbeck N, Wuerstlein R. Truly personalized therapy—An end to the era of one size fits all. *Nature Reviews Clinical Oncology*. 2019;16(2):77-8.
4. Behelgardi MF, Zahri S, Shahvir ZG, Mashayekhi F, Mirzanejad L, Asghari SM. Targeting Signaling Pathways of VEGFR1 and VEGFR2 as a Potential Target in The Treatment of Breast Cancer. *Molecular Biology Reports*. 2020;47(3):2061-2071.
5. Modi SJ, Kulkarni VM. Vascular Endothelial Growth Factor Receptor (VEGFR-2)/KDR Inhibitors: Medicinal Chemistry Perspective. *Medicine in Drug Discovery*.

- 2019;2(100009):1-25.
6. Wang X, Bove AM, Simone G, Ma B. Molecular Bases of VEGFR-2-Mediated Physiological Function and Pathological Role. *Front. Cell Dev. Biol.* 2020;8:599281.
 7. Shibuya M. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Its Receptor (VEGFR) Signaling in Angiogenesis: A Crucial Target for Anti- and Pro-Angiogenic Therapies. *Genes & Cancer.* 2011;2(12):1097-1105.
 8. Saudale FZ. Pemodelan Farmakofor, Skrining Virtual dan Docking Kandidat Inhibitor Baru Protein Reseptor Tirosin Kinase VEGFR2. *Alkimia:Jurnal Ilmu Kimia dan Terapan.* 2020;4(1): 30-40.
 9. Woo HY, Heo J. Sorafenib in liver cancer. *Expert Opinion on Pharmacotherapy.* 2012;13(7):1059–1067.
 10. Bronte E, Galvano A, Novo G, Russo A. Cardiotoxic Effects of Anti-VEGFR Tyrosine Kinase Inhibitors. *Cardio-Oncology.* United State:Academic Press; 2017:69–89.
 11. Jain L, Woo S, Gardner ER, Dahut WL, Kohn EC, Kummur S, et al. Population Pharmacokinetic Analysis Of Sorafenib In Patients With Solid Tumours. *Br J Clin Pharmacol.* 2011;72(2):294-305.
 12. Soria JC, DeBraud F, Bahleda R, Adamo B, Andre F, Dientsmann R, et al. Phase I/IIa Study Evaluating The Safety, Efficacy, Pharmacokinetics, And Pharmacodynamics Of Lucitanib In Advanced Solid Tumors. *Ann Oncol.* 2014;25(11):2244-2251.
 13. Wahab S, Annadurai S, Abullais SS, Das G, Ahmad W, Ahmad MF, et al. Glycyrrhiza Glabra (Licorice): A Comprehensive Review on Its Phytochemistry, Biological Activities, Clinical Evidence and Toxicology. *Plants.* 2021;10:2751.
 14. Kwon SJ, Park SY, Kwon GT, Lee KW, Kang YH, Choi MS, et al. Licochalcone E Present in Licorice Suppresses Lung Metastasis in the 4T1 Mammary Orthotopic Cancer Model. *Cancer Prev Res.* 2013;6(6):603-613.
 15. Doak BC, Over B, Giordanetto F, Kihlberg J. Oral druggable space beyond the rule of 5: insights from drugs and clinical candidates. *Chemistry & biology.* 2014;21(9):1115–1142.
 16. Srivastava R. Theoretical Studies on the Molecular Properties, Toxicity, and Biological Efficacy of 21 New Chemical Entities. *ACS omega.* 2021;6(38):24891–24901.
 17. Coimbra JTS, Ribeiro RFRP, Ramos MJ, Fernandes PA. The Importance of Intramolecular Hydrogen Bonds on The Translocation of The Small Drug Piracetam Through A Lipid Bilayer. *RSC Adv.* 2021;11:899-908.
 18. Daina A, Michielin, O, Zoete V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci Rep.* 2017;7(42717):1-13.
 19. Suherman M, Prasetiawati R, Ramdani D. Virtual Screening Of Tamarind Active Compounds (Tamarindus Indica L.) On Selective Inhibitor Siklooksigenase-2. *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari.* 2020;11(2): 135.
 20. McTigue M, Murray BW, Chen JH, Deng YL, Solowiej J, Kania RS. Molecular Conformations, Interactions, And Properties Associated With Drug Efficiency And Clinical Performance Among VEGFR TK Inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2012;109(45), 18281–18289.
 21. Kolina J, Sumiwi SA, Levita J. Mode Ikatan Metabolit Sekunder Di Tanaman Akar Kuning (*Arcangelisia flava* L.) Dengan Nitrat Oksida Sintase. *Fitofarmaka Jurnal Ilmiah Farmasi.* 2018;8(1): 50-58.
 22. Ferwadi S, Gunawan R, Astuti W. Studi Docking Molekular Senyawa Asam Sinamat Dan Derivatnya Sebagai Inhibitor Protein 1j4x Pada Sel Kanker Serviks. *Jurnal Kimia Mulawarman.* 2017;14(2):84-90.
 23. Kajal, Kirtim, et al . Andrographolide binds to ATP-binding pocket of VEGFR2 to impede VEGFA-mediated tumor-angiogenesis. *Scientific Reports.* 2019: 9 (4073): 1-10.
 24. Christine, Pebriani F, Faruq MAA, Florencia C, Hidayat S, Muchtaridi. Studi In-Silico Ekstrak dalam Tanaman Ranti (*Solanum*

- nigrum) sebagai Inhibitor JAK2 pada Penyakit Leukimia Limfoblastik. *Indonesian Journal of Biological Pharmacy*. 2022;2(1):10-21.
25. Suherman M, Prasetiawati R, Ramdani D. Virtual Screening Of Tamarind Active Compounds (*Tamarindus indica* L.) on Selective Inhibitor Siklooksigenase-2. *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*. 2020;11(2):125-136.