

**HUBUNGAN KUANTITATIF STRUKTUR–AKTIVITAS DAN
PENAMBATAN MOLEKUL SENYAWA ANALOG O–METIL
KUERSETIN SEBAGAI INHIBITOR *EPIDERMAL GROWTH
FACTOR RECEPTOR–TYROSINE KINASE* (EGFR–TK)**

SKRIPSI

**Oleh:
SHAFANA ZAHRA AULIA
066118270**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS PAKUAN
BOGOR
2023**

**HUBUNGAN KUANTITATIF STRUKTUR-AKTIVITAS DAN
PENAMBATAN MOLEKUL SENYAWA ANALOG O-METIL
KUERSETIN SEBAGAI INHIBITOR *EPIDERMAL GROWTH
FACTOR RECEPTOR-TYROSINE KINASE* (EGFR-TK)**

SKRIPSI

**Skripsi diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana pada Program Studi Farmasi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Pakuan**

**Oleh:
SHAFANA ZAHRA AULIA
066118270**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS PAKUAN
BOGOR
2023**

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Skripsi : Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas dan Penambatan Molekul Senyawa Analog O-Metil Kuersetin sebagai Inhibitor *Epidermal Growth Factor Receptor-Tyrosine Kinase* (EGFR-TK)

Nama : Shafana Zahra Aulia

NPM : 066118270

Program Studi : Farmasi

Skripsi ini telah disetujui dan disahkan
Bogor, Mei 2023

Pembimbing Pendamping



Dr. apt. Lusi Agus Setiani, M.Farm.

Pembimbing Utama



Dr. apt. Bina Lohita Sari, M.Pd., M.Farm.

Mengetahui,

Ketua Program Studi Farmasi



apt. Dra. Ike Yulia Wiendarlina, M.Farm.

DEKAN FMIPA – UNPAK



Asep Denih, S.Kom., M.Sc., Ph.D.

PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Shafana Zahra Aulia

NPM : 066118270

Judul Skripsi : Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas dan Penambatan Molekul Senyawa Analog O-Metil Kuersetin sebagai Inhibitor *Epidermal Growth Factor Receptor-Tyrosine Kinase* (EGFR-TK)

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah karya tulis yang dikerjakan sendiri dan tidak pernah dipublikasikan atau digunakan untuk mendapatkan gelar sarjana di perguruan tinggi atau lembaga lain.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya. Apabila di kemudian hari terdapat gugatan, penulis bersedia dikenakan sanksi sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Bogor, Mei 2023



Shafana Zahra Aulia

NPM. 066118270

**Surat Pelimpahan Skripsi, Sumber Informasi serta Kekayaan Intelektual
kepada Universitas Pakuan**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Shafana Zahra Aulia

NPM : 066118270

Judul Skripsi : Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas dan Penambatan Molekul Senyawa Analog O-Metil Kuersetin sebagai Inhibitor *Epidermal Growth Factor Receptor-Tyrosine Kinase* (EGFR-TK)

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing dan belum pernah diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun.

Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan oleh penulis lain telah disebutkan dalam teks and dicantumkan dalam daftar pustaka di bagian akhir skripsi ini.

Dengan ini, saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya ini kepada Universitas Pakuan.

Bogor, Mei 2023



Shafana Zahra Aulia

NPM. 066118270

HALAMAN PERSEMBAHAN

Saya persembahkan Skripsi ini kepada:

Allah SWT. yang telah melimpahkan nikmatnya, memberikan kesehatan, kesabaran dan kekuatan, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Bapak, dan Ibu yang telah memberi dukungan moril untuk penulis. Terima kasih untuk selalu ada disaat penulis membutuhkan dukungan.

Kedua kakakku dan budeku yang telah banyak membantu dan memberi dukungan moril dan materil. Terima kasih telah percaya dan selalu mendukung penulis yang terkadang mengecewakan.

Sobat 276, 288, dan 290 yang sudah selalu ada ketika saya merasa dunia tidak mendukung. Terima kasih untuk setiap momen tidak waras kita selama ini dan semoga tidak pernah berhenti disini. Semangat untuk apapun rencana kalian di kemudian hari.

Teman-teman seperjuangan, G'H Farmasi 2018 yang telah berjuang untuk mendapatkan gelar sarjana. Terima kasih untuk kebersamaan kita selama ini.

Ibu/Bapak dosen pembimbing, penguji, dan pengajar yang telah membimbing dan membagikan ilmunya kepada penulis. Terima kasih atas pengabdianmu.

Semua orang yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Dan kepada saya pribadi yang mudah mengeluh dan dibayangi keraguan. Terima kasih telah menjadi orang terakhir yang bisa mengatasi kesedihan, kelelahan, dan bertahan dalam menjalankan banyak hal baru selama menyelesaikan studi ini.

“Doing your best in every moment makes the victory of that move possible. Even if you think you won’t make it, fight to the end. In life, there are many things you start even if you know the predetermined end you”

~Jang Geu-Rae/Oh Sang-Shik, Misaeng (2014).

DAFTAR RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Bandar Lampung pada tanggal 15 November 2000 sebagai anak ketiga dari pasangan Bapak M. Khamdi dan Ibu R. Sriwuryani W. Penulis memulai pendidikan pada tahun 2005 di TK Pertiwi Bandar Lampung, lulus pada tahun 2006 dan melanjutkan pendidikan sekolah dasar di SD Negeri 1 Rawa Laut Bandar Lampung dan lulus pada tahun 2012. Kemudian penulis melanjutkan pendidikan sekolah menengah pertama di SMP Negeri 16 Bogor dan lulus pada tahun 2015. Penulis melanjutkan pendidikan sekolah menengah kejuruan di SMK Dwi Putri Husada Bogor jurusan Farmasi, hingga tahun 2018 dan melanjutkan pendidikan sarjana di Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan Bogor. Penulis menyelesaikan tugas akhir dengan skripsi yang berjudul “Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas dan Penambatan Molekul Senyawa Analog O-metil Kuersetin sebagai Inhibitor *Epidermal Growth Factor Receptor-Tyrosine Kinase* (EGFR-TK)” dan dinyatakan lulus pada tahun 2023.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena atas rahmat-Nya penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul **Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas dan Penambatan Molekul Senyawa Analog O-Metil Kuersetin sebagai Inhibitor *Epidermal Growth Factor Receptor-Tyrosine Kinase* (EGFR-TK)**. Skripsi ini dibuat sebagai salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan, Bogor.

Selama penyusunan skripsi ini penulis mendapat banyak bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak. Penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. apt. Bina Lohita Sari, M.Pd., M.Farm., selaku dosen pembimbing utama dan Dr. apt. Lusi Agus Setiani, M.Farm., selaku dosen pembimbing pendamping yang penuh kesabaran membimbing penulis selama penulisan skripsi ini.
2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam serta Ketua Program Studi Farmasi, Universitas Pakuan Bogor.
3. Seluruh Dosen dan Staf Program Studi Farmasi yang telah membantu kelancaran perkuliahan dan penyelesaian skripsi.
4. Kedua orang tua dan keluarga besar yang telah memberikan restu dan dukungan moril maupun materil
5. Rekan-rekan mahasiswa/i Program Studi Farmasi angkatan 2018 yang telah banyak memberi dukungan dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Sehingga penulis mengharapkan masukan, kritik dan saran yang membangun. Semoga skripsi yang dibuat ini dapat bermanfaat bagi pembaca.

Bogor, Mei 2023

Penulis

RINGKASAN

SHAFANA ZAHRA AULIA. 066118270. **Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas dan Penambatan Molekul Senyawa Analog O-Metil Kuersetin sebagai Inhibitor *Epidermal Growth Factor Receptor-Tyrosine Kinase* (EGFR-TK).** Di bawah bimbingan: Bina Lohita Sari, dan Lusi Agus Setiani.

Salah satu faktor pertumbuhan yang mengatur proliferasi sel adalah *Epidermal Growth Factor Receptor-Tyrosine Kinase* (EGFR-TK). Proliferasi sel yang tidak terkendali dapat menyebabkan kanker, salah satunya kanker paru yang paling sering terdiagnosis setelah kanker payudara. Kuersetin tersubstitusi O-metil dapat dipertimbangkan sebagai kandidat obat yang potensial untuk *Non-Small Cell Lung Cancer* (NSCLC). Salah satu strategi dalam mendesain kandidat obat adalah analisis Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas (HKSA).

Penelitian ini bertujuan mendapatkan persamaan HKSA dengan pendekatan Hansch untuk memprediksi nilai *inhibition concentration* (IC_{50}) senyawa baru. Digunakan 14 deskriptor sebagai variabel bebas dan nilai logaritma IC_{50} ($\text{Log}IC_{50}$) eksperimen sebagai variabel terikat dari 15 senyawa analog kuersetin tersubstitusi O-metil. Deskriptor dikalkulasi menggunakan metode semiempiris *parameterized method 3* (PM3) dengan program Hyperchem 8.0.7 dan diolah menggunakan analisis regresi linier berganda (MLR) dengan program SPSS Statistik 24.

Hasil dari penelitian adalah 2 dari 18 model persamaan HKSA dengan nilai validasi memenuhi syarat ($Q^2 > 0,5$) dan model 18 dipilih sebagai model terbaik dengan parameter $R = 0,966$; $R^2 = 0,933$; $F_{\text{hitung}}/F_{\text{tabel}} = 3,829853$; dan $Q^2 = 0,752226$. Prediksi nilai IC_{50} senyawa baru menggunakan model terbaik menunjukkan 2 dari 5 senyawa baru, QC6_7 dan QC6_8, memiliki nilai IC_{50} yang lebih baik dari senyawa lainnya, sebesar 1,76 dan 1,98 μM . Hasil penambatan keduanya terhadap reseptor EGFR-TK dengan program DOCK 6.9 menunjukkan nilai afinitas ikatan, sebesar -77,6986 dan -79,4575 kkal/mol, lebih negatif dibandingkan afinitas erlotinib, -65,0275 kkal/mol. Sehingga, senyawa QC6_7 dan QC6_8 memiliki potensi sebagai inhibitor EGFR-TK pada kanker paru.

Kata Kunci: HKSA; Analog Kuersetin; Penambatan Molekul; EGFR-TK.

SUMMARY

SHAFANA ZAHRA AULIA. 066118270. **Quantitative Structure-Activity Relationship and Molecular Docking of O-methyl Quercetin Analogues Compounds as Epidermal Growth Factor Receptor-Tyrosine Kinase (EGFR-TK) Inhibitors.** Mentored by: Bina Lohita Sari, dan Lusi Agus Setiani.

One of the growth factors that regulate cell proliferation is Epidermal Growth Factor Receptor-Tyrosine Kinase (EGFR-TK). Uncontrolled cell proliferation can cause cancer, one of which is lung cancer that is most often diagnosed after breast cancer. O-methyl substituted quercetin can be considered as a potential drug candidate for Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC). One strategy in designing drug candidates is the Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR) analysis.

This study aims to obtain the QSAR equation with the Hansch approach to predict the inhibition concentration (IC_{50}) value of new compounds. Fourteen descriptors were used as independent variables and experimental $\log IC_{50}$ values as the dependent variable for 15 O-methyl substituted quercetin analogues compounds. Descriptors were calculated using the semiempirical parameterized method 3 (PM3) with HyperChem 8.0.7 program and processed using multiple linear regression (MLR) analysis with SPSS Statistic 24 program.

The result of this research were that 2 of 18 QSAR equation models with validation values met the requirement ($Q^2 > 0,5$) and model 18 was chosen as the best model with parameters $R = 0,966$; $R^2 = 0,933$; $F_{count}/F_{table} = 3,829853$; and $Q^2 = 0,752226$. Prediction of the IC_{50} value of new compounds using the best model shows that 2 of the 5 new compounds, QC6_7 and QC6_8, have IC_{50} values that are better than the other compounds, amounting to 1,76 and 1,98 μM . The results of both docking to the EGFR-TK receptor with the DOCK 6.9 program showed binding affinity values of -77,6986 and -79,4575 kcal/mol, more negative than erlotinib affinity, -65,0275 kcal/mol. Thus, compounds QC6_7 and QC6_8 have potential as EGFR-TK inhibitors in lung cancer.

Keywords: QSAR; Quercetin Analogues; Molecular Docking; EGFR-TK.

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA TULIS	iii
SURAT PELIMPAHAN SKRIPSI	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
DAFTAR RIWAYAT HIDUP	vi
KATA PENGANTAR	vii
RINGKASAN	viii
SUMMARY	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian	3
1.3. Hipotesis Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Kanker Paru	4
2.2. Klasifikasi Kanker Paru	6
2.3. Terapi Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC).....	6
2.4. Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR)	7
2.5. EGFR Tyrosine Kinase Inhibitor (EGFR-TKI)	9
2.6. Kuersetin	11
2.7. Analisis HKSA	12
2.7.1. Pendekatan HKSA	13
2.7.2. Parameter Fisikokimia	14
2.7.3. Optimasi Geometri	15

2.7.4. Analisis Statistik HKSA	16
2.7.5. Validasi Model HKSA	17
2.8. Penambatan Molekul	18
2.9. HyperChem	18
2.10. UCSF DOCK	19
2.11. UCSF Chimera	20
BAB III METODE PENELITIAN	21
3.1. Tempat dan Waktu Pelaksanaan	21
3.2. Variabel Penelitian	21
3.3. Alat dan Bahan	21
3.3.1. Alat	21
3.3.2. Bahan	22
3.4. Prosedur Penelitian	22
3.4.1. Analisis HKSA	22
3.4.2. Desain Senyawa Baru	24
3.4.3. Penambatan Molekul	24
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	27
4.1. Hubungan Kuantitatif Struktur dan Aktivitas	27
4.1.1. Pemilihan <i>Data Set</i>	27
4.1.2. Perhitungan Sifat Fisikokimia dengan Metode PM3	29
4.1.3. Perhitungan Deskriptor	30
4.1.4. Penentuan Model HKSA	37
4.2. Hasil Desain Senyawa Baru	43
4.3. Penambatan Molekul	48
4.3.1. Penyiapan Reseptor dan Ligan	48
4.3.2. Validasi Penambatan Molekul	49
4.3.3. Analisis and Visualisasi Hasil Penambatan Molekul	50
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	57

5.1. Kesimpulan.....	57
5.2. Saran.....	57
DAFTAR PUSTAKA	58
LAMPIRAN.....	67

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Mekanisme Aktivasi dan Pensinyalan EGFR	8
2. Struktur EGFR	9
3. Inhibitor EGFR-TK: Gefitinib; Afatinib; Erlotinib; dan Osimertinib.....	10
4. Struktur Flavonol, dan Kuersetin	11
5. Struktur dasar dengan gugus Rn adalah substituen	28
6. Nilai R^2 berdasarkan grafik regresi linier, di mana: sebelum penghapusan data, dan setelah dihapus 3 data.	40
7. Visualisasi hasil <i>redocking</i> dan interaksi kimia erlotinib.....	50

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Klasifikasi stadium kanker paru berdasarkan <i>The 8th Edition</i> AJCC/UICC <i>Lung Cancer Stage Classification</i>	4
2. Definisi deskriptor TNM.....	5
3. Nilai IC ₅₀ (μM) aktivitas anti-proliferasi senyawa turunan kuersetin terhadap sel kanker paru A549.....	28
4. Rekapitulasi nilai deskriptor hidrofobik dan deskriptor sterik.....	30
5. Rekapitulasi nilai deskriptor elektronik	33
6. Rekapitulasi nilai E _{HOMO} , E _{LUMO} , GAP (selisih E _{LUMO} dan E _{HOMO})	36
7. Hasil regresi linier berganda metode <i>backward</i>	38
8. Hasil regresi linier berganda dari kombinasi beberapa deskriptor	39
9. Hasil validasi model persamaan hasil regresi linier berganda dari kombinasi beberapa deskriptor.....	42
10. Nilai deskriptor senyawa baru dan LogIC ₅₀ prediksi	45
11. Hasil LogIC ₅₀ prediksi dan IC ₅₀ prediksi senyawa baru.....	47
12. Visualisasi hasil <i>docking</i> ligan pembanding, dan desain senyawa baru dengan modifikasi gugus O-alkilamino	51
13. Komponen skor <i>grid</i> : energi van der Waals dan elektrostatik	55
14. Rekapitulasi interaksi kimia dan jarak ikatan hidrogen	56

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Alur penelitian	68
2. Diagram alur hubungan kuantitatif struktur dan aktivitas.....	69
3. Diagram alur penambatan molekuler	70
4. Output SPSS analisis regresi linier berganda metode <i>backward</i>	71
5. Model hasil regresi linear kombinasi beberapa deskriptor.....	73
6. Output SPSS analisis regresi model persamaan 18	74
7. Validasi model persamaan hasil regresi linier berganda dari kombinasi beberapa deskriptor	76
8. Validasi model persamaan 18 dengan LOO (Q^2).....	78
9. Simulasi proses validasi model persamaan dengan LOO (Q^2)	79
10. Hasil LogIC ₅₀ prediksi dan IC ₅₀ prediksi <i>data set</i> berdasarkan model persamaan 18.....	80
11. Hasil penambatan molekul senyawa analog O-metil kuersetin.....	81

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kanker adalah sekelompok neoplasma ganas yang dapat memengaruhi setiap bagian dari tubuh. Kanker merupakan penyebab utama kematian kedua secara global (WHO, 2019). Basis data *Global Burden of Cancer Study* (GLOBOCAN), yang disusun oleh *International Agency for Research on Cancer* (IARC) mengestimasi terdapat 18,1 juta kasus terdiagnosis kanker dan 9,6 juta kematian akibat kanker yang terjadi secara global pada tahun 2018 (Ferlay *et al.*, 2019). Di Indonesia, jumlah terdiagnosis kanker berdasarkan basis data GLOBOCAN tahun 2020 adalah sebesar 396.914 kasus dan angka kematian akibat kanker sebesar 234.511 kasus (The Global Cancer Observatory, 2020). Secara global, kanker paru merupakan kanker yang paling sering terdiagnosis kedua setelah kanker payudara. Diperkirakan terdapat 2,2 juta kasus baru kanker paru, mewakili sekitar 1 dari 10 (11,4%) kasus terdiagnosis kanker dan 1,8 juta kematian karena kanker paru, mewakili sekitar 1 dari 5 (18%) kasus kematian akibat kanker pada tahun 2020 (Sung *et al.*, 2021).

Kanker paru secara umum dibagi menjadi dua jenis, yaitu *Non-Small Cell Lung Cancer* (NSCLC) dan *Small Cell Lung Cancer* (SCLC) (Scott, 2012). Kejadian NSCLC terhitung sekitar 80-85% dari semua kanker paru (Jiang *et al.*, 2019). Salah satu pensinyalan yang memicu proliferasi sel dan melawan apoptosis adalah *epidermal growth factor receptor* (EGFR) (Wee and Wang, 2017). *Epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase* (EGFR-TK) yang merupakan reseptor tirosin kinase yang mengaktifasi kaskade pensinyalan yang terlibat dengan patogenesis karsinoma, seperti *phosphatidylinositol 3-kinase* (PI3K)/Akt dan *mitogen-activated protein kinase* (MAPK) (Zubair *et al.*, 2021).

Kuersetin telah menjadi daya tarik sebagai senyawa alami untuk pencegahan kanker karena efek antimutagenik dan antiproliferasinya yang bermanfaat, sifat antioksidan dan perannya dalam regulasi pensinyalan sel, siklus

sel, dan apoptosis (Kim *et al.*, 2019). Kuersetin dapat menekan ekspresi molekul pensinyalan EGFR/Akt/ β -catenin, yang diatur dalam sel kanker paru A549 (Elumalai, Ezhilarasan, and Raghunandhakumar, 2021). Senyawa turunan kuersetin dengan substitusi O-metil seperti isorhamnetin dan tamarixetin menginduksi kematian sel apoptosis dalam model eksperimental kanker paru, yang mengungkapkan kuersetin termetilasi sebagai kandidat obat baru yang potensial untuk pengobatan kanker paru (NSCLC) di masa depan (Sak *et al.*, 2018).

Pengujian aktivitas antiproliferasi dari 16 senyawa analog O-metil kuersetin secara *in vitro* dengan pendekatan *high-throughput screening* terhadap salah satu sel kanker paru, A549. Hubungan struktur–aktivitas senyawa analog O-metil kuersetin menunjukkan gugus O-metil pada posisi 4' dan/atau posisi 7, yang memiliki peran penting sebagai penghambat aktivitas proliferasi terhadap 16 sel kanker (Shi *et al.*, 2014).

Dari penambatan molekul senyawa kuersetin dengan EGFR-TK, diketahui kuersetin berinteraksi dengan residu katalitik Met769 dengan ikatan hidrogen dan menunjukkan interaksi hidrofobik dengan beberapa asam amino seperti Leu820, Leu694, Ala719, Val702, dan Lys721 pada kantung hidrofobik protein EGFR-TK (Zubair *et al.*, 2021). Met769 merupakan residu kunci dalam pengikatan inhibitor EGFR-TK seperti erlotinib dengan reseptor EGFR-TK (Sangande and Uneputty, 2021).

Salah satu strategi dalam mendesain kandidat obat adalah melalui pendekatan atau analisis Hubungan Kuantitatif Struktur–Aktivitas (HKSA). Sebuah penelitian menunjukkan aktivitas antikanker kolon dan anti-hepatoma turunan kumarin 4-anilino tersubstitusi berhasil diprediksi menggunakan persamaan HKSA melalui optimasi geometri metode semiempiris PM6 dan metode analisis statistik linier berganda (Putri *et al.*, 2022). Analisis HKSA dilakukan untuk mengetahui pengaruh kuantitatif struktur molekul senyawa terhadap aktivitas kemoterapinya. Mengembangkan model HKSA membutuhkan kumpulan data yang beragam dan oleh karena itu, sejumlah deskriptor dipertimbangkan. Berbagai parameter

fisikokimia, terutama koefisien partisi ($\log P$) dapat digunakan untuk memodelkan aktivitas kemoterapi senyawa turunan kuersetin (Rouane *et al.*, 2018). Struktur molekul akan diminimisasi energi molekulnya untuk memperoleh konformasi struktur yang stabil dengan optimasi geometri semiempiris *Parameterization Method 3* (PM3). PM3 memprediksi energi dan panjang ikatan lebih akurat daripada AM1 atau MNDO. Perhitungan semiempiris telah berhasil dalam deskripsi kimia organik, di mana hanya ada beberapa elemen yang digunakan secara ekstensif (Young, 2001).

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dilakukan studi HKSA dengan metode PM3 dari senyawa analog O-metil kuersetin sebagai penghambat aktivitas proliferasi. Model persamaan HKSA akan digunakan untuk memprediksi nilai IC_{50} senyawa dengan modifikasi O-alkilamino, serta dilakukan penambatan molekul terhadap reseptor EGFR-TK.

1.2. Tujuan Penelitian

1. Mendapatkan model persamaan HKSA senyawa turunan O-metil kuersetin sebagai penghambat aktivitas proliferasi pada kanker paru.
2. Mendapatkan senyawa baru dengan nilai IC_{50} prediksi berdasarkan model persamaan HKSA.
3. Menentukan nilai afinitas ikatan senyawa baru dengan penambatan molekul terhadap reseptor EGFR-TK yang merupakan salah satu reseptor pensinyalan proliferasi sel.

1.3. Hipotesis Penelitian

1. Model persamaan HKSA senyawa turunan O-metil kuersetin dapat digunakan untuk memprediksi aktivitas antiproliferasi pada kanker paru.
2. Diperoleh senyawa baru dengan nilai IC_{50} prediksi yang lebih baik dibandingkan senyawa lainnya.
3. Nilai afinitas ikatan senyawa baru dengan penambatan molekul terhadap reseptor EGFR-TK lebih baik dibanding senyawa acuan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kanker Paru

Kanker adalah sekelompok penyakit yang ditandai dengan pertumbuhan sel yang normal, invasi, dan penyebaran sel dari lokasi asalnya, ke lokasi lain di dalam tubuh (Pecorino, 2016). Kanker adalah penyebab utama kematian di seluruh dunia, hampir 10 juta kematian terjadi pada tahun 2020. Kasus baru kanker yang paling umum pada tahun 2020 adalah kanker payudara (2,26 juta kasus), kanker paru (2,21 juta kasus), kanker prostat (1,41 juta kasus), kanker kulit non-melanoma (1,19 juta kasus), kanker kolon (1,14 juta kasus), dan kanker perut (1,08 juta kasus). Kasus kematian paling umum dari kanker pada tahun 2020 adalah kanker paru (1,79 juta kasus kematian) (Sung *et al.*, 2021).

Tabel 1. Klasifikasi stadium kanker paru menurut *The 8th Edition AJCC/UICC Lung Cancer Stage Classification*

T/M	Subkategori	N0	N1	N2	N3
T1	T1a	IA1	IIB	IIIA	IIIB
	T1b	IA2	IIB	IIIA	IIIB
	T1c	IA3	IIB	IIIA	IIIB
T2	T2a	IB	IIB	IIIA	IIIB
	T2b	IIA	IIB	IIIA	IIIB
T3	T3	IIB	IIIA	IIIB	IIIC
T4	T4	IIIA	IIIA	IIIB	IIIC
M1	M1a	IVA	IVA	IVA	IVA
	M1b	IVA	IVA	IVA	IVA
	M1c	IVB	IVB	IVB	IVB

Klasifikasi stadium kanker paru yang dikembangkan oleh *International Association for the Study of Lung Cancer (IASLC)*, didasarkan pada analisis statistik canggih dari basis data internasional lebih dari 100.000 pasien. Analisis ini telah diterbitkan dalam serangkaian artikel di *Journal of Thoracic Oncology*. Klasifikasi stadium pada Tabel 1 secara khusus memberikan gambaran tentang

tingkat anatomi penyakit yang juga berguna sebagai alat untuk menentukan prognosis, meskipun perlu pertimbangan dengan faktor lain yang memengaruhi prognosis (Detterbeck, 2018). Klasifikasi stadium kanker paru menggunakan deskriptor TNM (*Tumor, Nodus, Metastasis*) yang tertera pada Tabel 2.

Tabel 2. Definisi deskriptor TNM

T (tumor utama)	
T0	Tidak ada tumor utama
Tis	<i>Carcinoma in situ (squamous atau adenocarcinoma)</i>
T1	Tumor ≤ 3 cm
T1mi	Adenokarsinoma invasif minimal
T1a	Tumor menyebar secara superfisial di saluran udara sentral
T1a	Tumor ≤ 1 cm
T1b	Tumor >1 tetapi ≤ 2 cm
T1c	Tumor >2 tetapi ≤ 3 cm
T2	Tumor >3 tetapi ≤ 5 cm atau tumor yang melibatkan: pleura viseralis
T2a	Tumor >3 tetapi ≤ 4 cm
T2b	Tumor >4 tetapi ≤ 5 cm
T3	Tumor >5 tetapi ≤ 7 cm atau menyerang dinding dada, perikardium, saraf frenikus; atau nodul tumor terpisah di lobus yang sama.
T4	Tumor >7 cm atau atau invasi tumor: mediastinum, diafragma, jantung, pembuluh darah besar, nervus laringeus rekuren, carina, trakea, esofagus, tulang belakang; atau nodul tumor di lobus ipsilateral yang berbeda.
N (nodus regional)	
N0	Tidak ada metastasis nodus regional
N1	Metastasis pada nodus pulmonalis atau hilus ipsilateral
N2	Metastasis pada kelenjar mediastinum atau subcarinal ipsilateral
N3	Metastasi pada nodus mediastinum, hilus, atau supraklavikula kontralateral.
M (metastasis)	
M0	Tidak ada metastasis
M1a	Efusi pleura atau perikardial ganas atau nodul pleura atau perikardial atau nodul tumor terpisah di lobus kontralateral
M1b	Metastasis ekstratoraks Tunggal
M1c	Multi-metastasis ekstratoraks (1 atau >1 organ)

2.2. Klasifikasi Kanker Paru

Kanker paru secara umum dibagi menjadi dua jenis, yaitu *Small Cell Lung Cancer* (SCLC) dan *Non-Small Cell Lung Cancer* (NSCLC) (Scott, 2012).

A. *Small Cell Lung Cancer* (SCLC)

SCLC adalah tumor epitel ganas yang terdiri dari sel-sel kecil dengan sedikit sitoplasma, batas sel tidak jelas, kromatin inti granular halus, dan nukleolus tidak mencolok (Haugen *et al.*, 2008). SCLC disebut juga karsinoma sel *oat*, karena sel-selnya menyerupai *oat* di bawah mikroskop. Mungkin sekitar 10-15% dari kanker paru termasuk dalam kategori ini. SCLC adalah bentuk kanker yang sangat agresif. Sel membelah dengan cepat, sehingga penyakit menyebar dengan cepat. Waktu penggandaan sel hanya sekitar 30 hari (Henschke, McCarthy, and Wernick, 2002).

B. *Non-Small Cell Lung Cancer* (NSCLC)

NSCLC memiliki beberapa bentuk yang berbeda. Biasanya NSCLC melibatkan tumor tunggal. Beberapa dari kanker ini tumbuh secepat SCLC, tetapi biasanya waktu penggandaannya adalah 30-180 hari (Henschke, McCarthy, and Wernick, 2002). Berikut dua contoh NSCLC (Haugen *et al.*, 2008):

- 1) Adenokarsinoma, adalah tumor epitel ganas dengan diferensiasi kelenjar atau produksi mucin, menunjukkan asinar, papiler, bronkioloalveolar, atau padat dengan pertumbuhan mucin, atau campuran dari pola-pola tersebut.
- 2) Karsinoma sel skuamosa, adalah tumor epitel ganas yang menunjukkan keratinisasi dan/atau jembatan interseluler yang muncul dari epitel bronkus.

2.3. Terapi Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC)

Terapi untuk NSCLC dibagi menjadi pembedahan, radioterapi, dan kemoterapi (Haugen *et al.*, 2008).

A. Pembedahan

Reseksi bedah tetap menjadi satu-satunya pilihan yang paling konsisten dan berhasil untuk penyembuhan bagi pasien yang didiagnosis menderita kanker paru. Standar kriteria saat ini untuk luasnya reseksi paru adalah lobektomi untuk tumor yang dapat direseksi pada pasien yang dianggap dapat menoleransi reaksi semacam itu (Molina *et al.*, 2008).

Eksisi bedah lengkap untuk pengobatan pilihan NSCLC tahap I adalah lobektomi anatomis, asalkan risiko dapat diterima. Kurang dari 10% pasien dengan NSCLC tahap II memilih pembedahan. Sebagian besar pasien NSCLC tahap II dapat secara efektif disarankan dengan lobektomi, meskipun sekitar sepertiga akan memerlukan pneumonektomi, terutama karena kelenjar getah bening yang melekat pada arteri pulmonalis atau bronkus utama. Reseksi (pengangkatan jaringan) diindikasikan untuk pasien dengan NSCLC tahap awal (Haugen *et al.*, 2008).

B. Radiasi

Peran terapi radiasi terbatas pada pasien dengan NSCLC tahap awal dan paling cocok untuk mengobati pasien yang secara medis tidak layak atau menolak untuk menjalani operasi. Terapi radiasi juga dapat digunakan dalam pengaturan ini untuk pasien yang tidak menjalani reseksi bedah lengkap (Haugen *et al.*, 2008). Mayoritas pasien dengan NSCLC stadium IV memiliki penyakit yang meluas. Radioterapi paliatif memiliki peran yang mapan dalam mengurangi gejala dan meningkatkan kualitas hidup (Vinod and Hau, 2020).

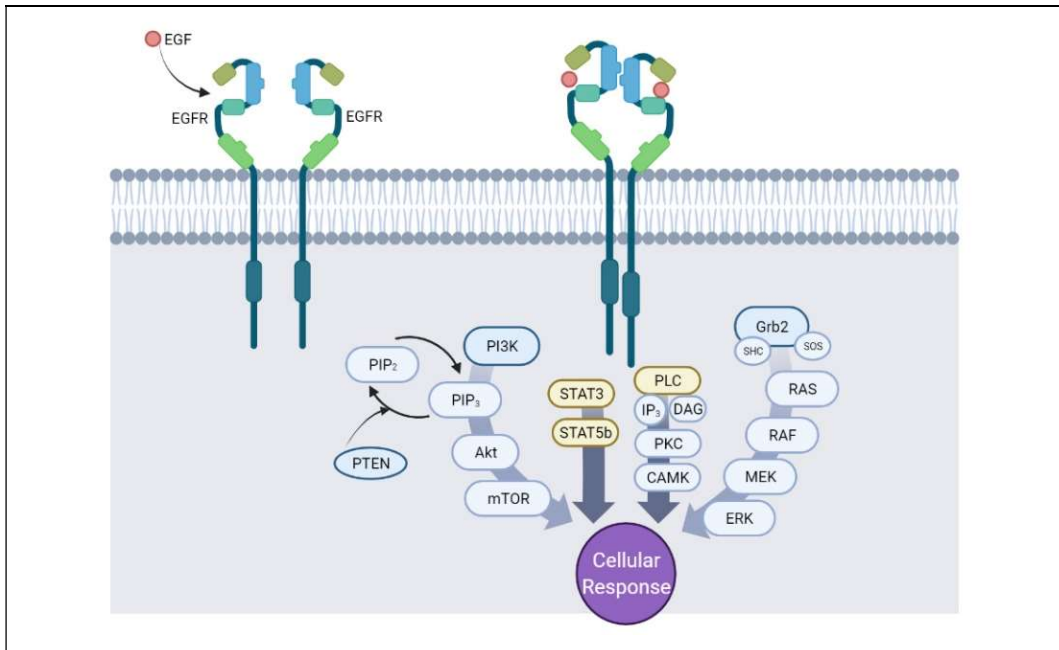
C. Kemoterapi

Pasien dengan NSCLC stadium lanjut atau metastatik ditawarkan terapi sistemik berdasarkan status mutasi mereka. Mutasi EGFR adalah mutasi target paling umum pada NSCLC, menyumbang 10-35% dari seluruh kasus NSCLC. Erlotinib, gefitinib, dan afatinib, yang merupakan inhibitor tirosin kinase dari EGFR, telah membuktikan kemanjurannya dalam pengobatan pasien dengan NSCLC stadium lanjut dengan tumor yang menyimpan sensitasi EGFR (seperti penghapusan ekson 19 dan mutasi titik L858R pada ekson 21) (Nagasaka and Gadgeel, 2018).

2.4. Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR)

Growth Factor merupakan protein pensinyalan ekstraseluler, juga disebut *mitogens* karena fungsi pengaktifan proliferasi. Sebagian besar merangsang jalur transduksi sinyal intraseluler yang mengaktifkan proliferasi dan kelangsungan hidup sel (Wagener, Stocking, and Mueller, 2017). EGFR adalah reseptor tirosin kinase dan komponen penting dari aktivasi jalur pensinyalan sel, meliputi: jalur

Ras-Raf-Mek, yang mentransduksi sinyal yang terkait dengan aktivitas proliferasi, dan jalur PI3K-Akt mamalia dari jalur rapamycin (mTOR), yang mentransduksi sinyal kelangsungan hidup, sebagian besar terkait dengan efek anti-apoptosis (Remon *et al.*, 2014).



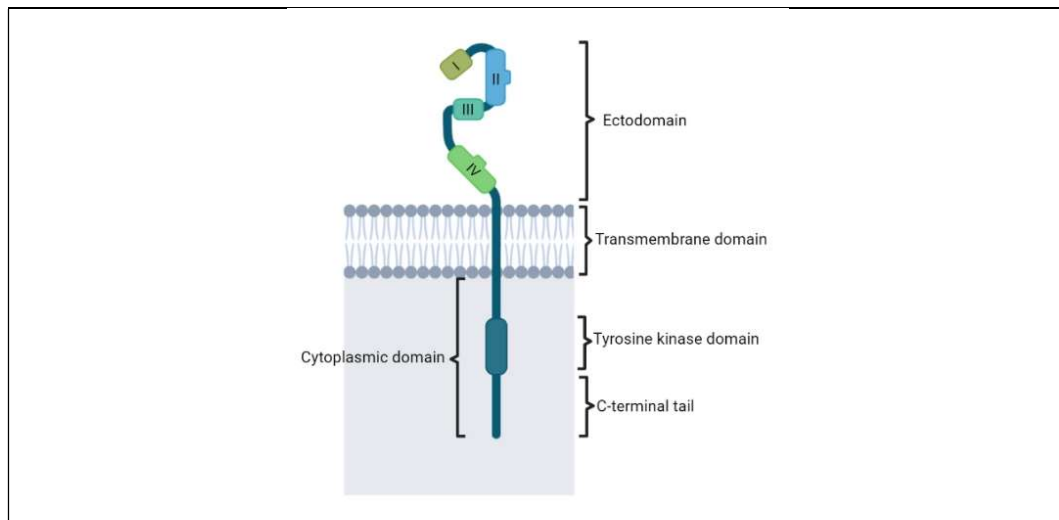
Gambar 1. Mekanisme Aktivasi dan Pensinyalan EGFR (modifikasi dari Pines *et al.*, 2010)

EGFR biasanya diekspresikan secara berlebihan pada banyak kanker, seperti kanker NSCLC, kanker kolorektal, dan kanker payudara. EGFR adalah protein transmembran dengan domain pengikat ligan ekstraselular-terminal-N, domain lipofilik transmembran, dan domain tirosin kinase (Jurišić *et al.*, 2018). Reseptor EGFR memiliki ligan utama yaitu EGF dan TGF- α yang dapat terekspresi berlebihan dan menimbulkan NSCLC (Weinberg, 2014). Ligan EGF adalah ligan domain ekstraselular paling menonjol pada kanker paru. Domain transmembran EGFR menghubungkan domain pengikat ligan ke domain pensinyalan tirosin kinase intraselular (Liu *et al.*, 2017).

Seperti mekanisme aktivasi EGFR pada Gambar 1, ketika ligan tidak ada, sebagian besar EGFR berbentuk monomer. Domain kinase secara otomatis dihambat oleh *carboxyl-tail* reseptor. Ikatan ligan menjebak domain ekstraseluler EGFR dalam konformasi yang siap untuk membentuk dimer reseptor, yang

dimediasi oleh interaksi timbal balik dimerisasi. Hasil perubahan konformasi diteruskan ke bagian reseptor intraseluler, menghasilkan pembentukan dimer domain kinase asimetris. Dalam dimer asimetris ini, *C-lobe* domain kinase dari ‘*activator kinase*’ menopang domain kinase *N-lobe* dari ‘*receiver kinase*’, menghasilkan aktivasi katalitik yang terakhir. *Receiver kinase* memfosforilasi residu tirosin intraseluler dari *activator kinase*, yang mengelompok di *carboxyl-tail* (Pines et al., 2010). Fosforilasi residu tirosin, menghasilkan percepatan proliferasi dan migrasi sel, kelangsungan hidup sel (dengan menghindari apoptosis) dan mempromosikan angiogenesis (Yoneda et al., 2019).

Struktur keseluruhan EGFR yang dapat dilihat pada Gambar 2, menunjukkan secara garis besar bagaimana fungsinya. Setelah *ectodomain* (*N-terminal domain*) mengikat EGF, sebuah sinyal ditransmisikan melalui membran plasma untuk mengaktifkan *cytoplasmic domain*; setelah diaktifkan, sinyal dipancarkan dan menginduksi sel untuk tumbuh dan membelah (Weinberg, 2014).

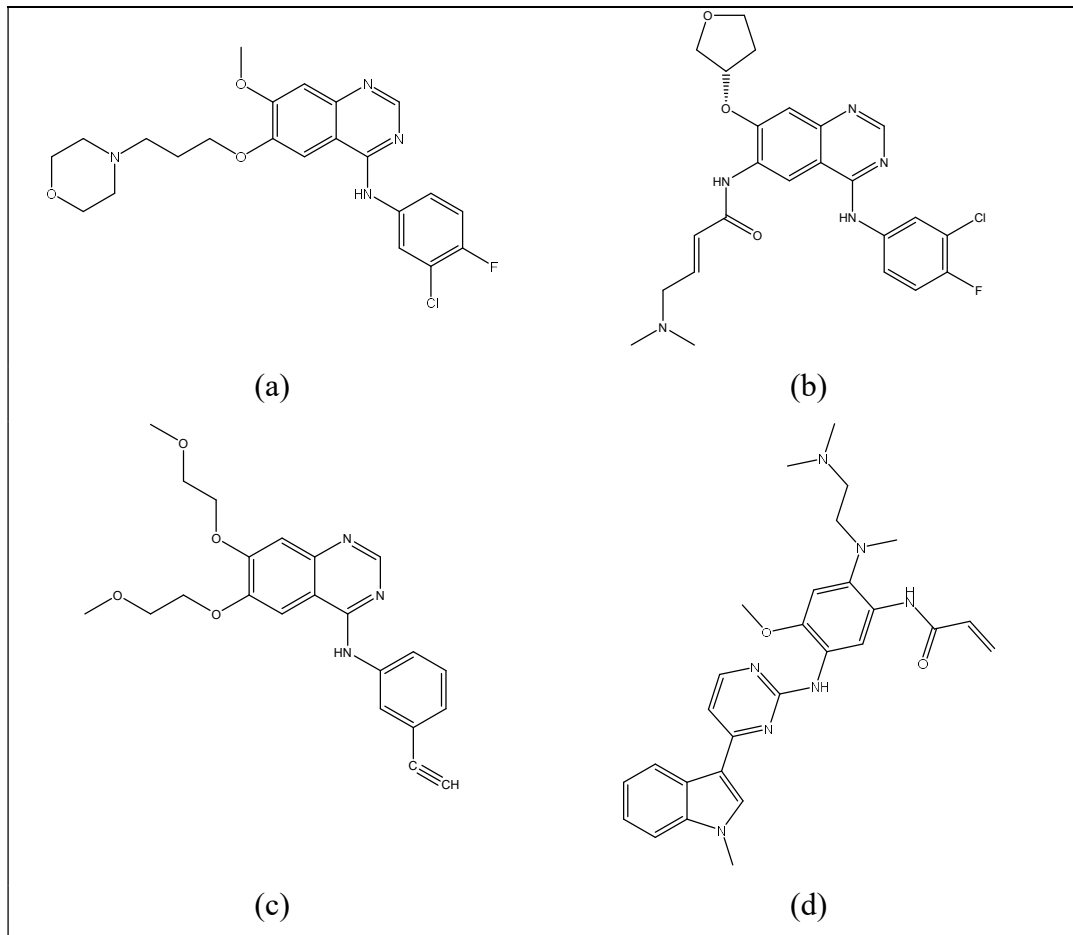


Gambar 2. Struktur EGFR (modifikasi dari Weinberg, 2014)

2.5. EGFR Tyrosine Kinase Inhibitor (EGFR-TKI)

Dua kelas inhibitor EGFR, antibodi monoklonal (misalnya, cetuximab) dan *tyrosine kinase inhibitor* (TKI) (misalnya, erlotinib dan gefitinib), telah dipelajari dalam uji coba fase III dan saat ini digunakan secara klinis di NSCLC. Antibodi monoklonal menargetkan EGFR mengikat domain ekstraseluler EGFR dan

memblokir pengikatan ligan dan aktivasi reseptor, sementara EGFR-TKI secara *reversible* dengan *adenosine triphosphate* (ATP) untuk mengikat domain katalitik dari domain kinase intraseluler untuk menghambat aktivitasnya (Gazdar, 2010).



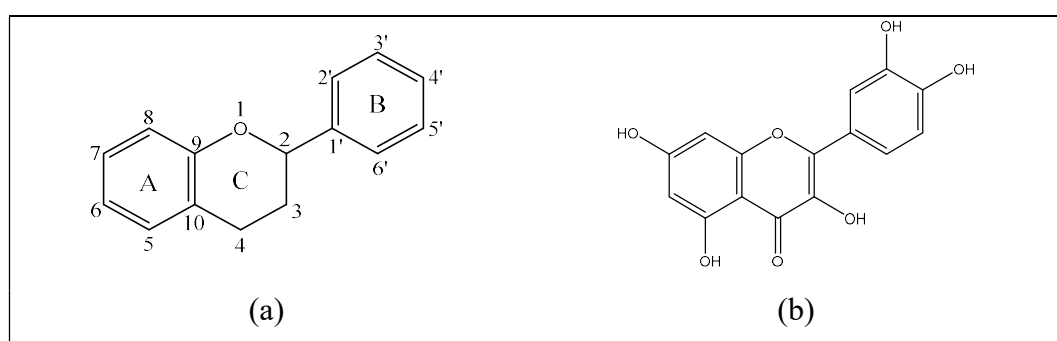
Gambar 3. Inhibitor EGFR-TK, (a) Gefitinib; (b) Afatinib; (c) Erlotinib; dan (d) Osimertinib

Beberapa inhibitor reseptor tirosin kinase telah dikembangkan untuk terapi kanker, seperti *tarceva* (erlotinib) dan gefitinib, terutama yang digunakan untuk melawan tumor dengan pengaktifan EGFR. Sebagian inhibitor kinase memblokir aktivitas enzim melalui mekanisme kompetitif (Wagener, Stocking, and Mueller, 2017). Dalam sel tumor, aktivitas EGFR-*tyrosine kinase* (EGFR-TK) dapat dideregulasi oleh beberapa mekanisme onkogenik, termasuk mutasi EGFR, peningkatan jumlah salinan gen, dan ekspresi berlebih protein EGFR. Aktivasi EGFR-TK yang tidak memadai menghasilkan peningkatan kelangsungan sel ganas, proliferasi, invasi, dan metastasis (Mayo *et al.*, 2012).

EGFR-TKI generasi pertama, gefitinib dan erlotinib, memiliki ikatan *reversible* dengan EGFR-*mutant*, tetapi tidak aktif untuk mutasi T790M. EGFR-TKI generasi kedua, afatinib dan dacomitinib, memiliki ikatan kovalen yang *irreversible* dengan semua reseptor ErbB/HER (heterodimer EGFR, ErbB2, ErbB4), dan tidak aktif terhadap mutasi T790M. EGFR-TKI generasi ketiga, osimertinib, dicirikan dengan ikatan kovalen yang *irreversible* dengan EGFR-*mutant* dan aktif pada T790M (Hsu *et al.*, 2019). EGFR-TKI generasi ketiga lainnya yang disetujui untuk penggunaan klinis adalah rociletinib, olmutinib, nazartinib, ASP8273, dan PF-06747775 (Noor *et al.*, 2019). Struktur dari beberapa EGFR-TKI dapat tertera pada Gambar 3.

2.6. Kuersetin

Kuersetin (3,3',4',5,7-pentahidroksiflavanon) adalah senyawa flavonoid golongan flavonol. Flavonol umumnya terdapat dalam bentuk glikosida, seperti kaemferol, kuersetin, dan mirisetin (Arifin and Ibrahim, 2018). Kuersetin dibangun di atas struktur flavon: C6 (cincin-A)–C3 (cincin-C)–C6 (cincin-B) seperti pada Gambar 4 (Singh *et al.*, 2021). Kuersetin banyak ditemukan dalam apel, anggur merah, bawang, raspberry, madu, ceri, dan sayuran berdaun hijau, dan memberikan efek biologis, termasuk antioksidan, antikanker, antivirus, menginduksi apoptosis, menghambat protein kinase C, modulator siklus sel, dan efek penghambatan angiogenesis (Hashemzaei *et al.*, 2017).



Gambar 4. Struktur (a) Flavonol, dan (b) Kuersetin

Sifat fungsional utama dari flavonoid adalah kemampuannya sebagai antioksidan yang dapat mencegah penyakit jantung dan kanker. Flavonoid menampilkan aktivitas antioksidan tergantung pada dua faktor: transfer elektron-proton

dan stabilisasi radikal bebas yang terbentuk. Agen antioksidan fenolik (Ar-OH) menangkap radikal bebas yang dihasilkan lebih cepat daripada molekul endogen lainnya, sehingga memberikan perlindungan bagi sel. Alasan utama aktivitas antioksidan flavonoid adalah: posisi dan jumlah hidroksil fenol yang melekat pada kerangka karbon, sifat fisikokimia substituen lain dan kemungkinan pembentukan hidrogen intramolekul (Scotti *et al.*, 2013).

Metabolit kuersetin termetilasi memiliki aktivitas antikanker yang jauh lebih kuat daripada kuersetin itu sendiri, sedangkan potensinya tidak tergantung pada apakah gugus metil terletak pada posisi 3' (isorhamnetin) atau 4' (tamarixetin) pada cincin-B dalam kerangka kuersetin. Penambahan gugus metil pada posisi 3'- atau 4' cincin B kuersetin secara signifikan meningkatkan aktivitas antikanker flavonol ini yang ditunjukkan terhadap sel adenokarsinoma paru, bahwa senyawa ini dapat dipertimbangkan sebagai kandidat baru yang potensial untuk pengembangan kemoterapi masa depan dalam memerangi kanker paru (Sak *et al.*, 2018).

2.7. Analisis HKSA

Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR) atau Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas (HKSA) didefinisikan sebagai persamaan matematis yang menghubungkan aktivitas biologis senyawa dengan fitur strukturalnya. QSAR atau HKSA adalah teknik kemoinformatika, yang melibatkan pengumpulan data dan terbukti membantu dalam mempercepat proses desain dan penemuan obat (Dastmaslchi, Hamzeh-Mivehroud, and Sokouti, 2018). Prinsip dasarnya adalah bahwa variasi sifat struktural (sifat fisikokimia) memengaruhi aktivitas biologis yang berbeda. Pemodelan HKSA membantu memprioritaskan sejumlah besar bahan kimia dalam hal aktivitas biologis yang diinginkan sebagai metodologi *in silico*, dan sebagai hasilnya, secara signifikan mengurangi jumlah bahan kimia kandidat yang akan diuji dengan eksperimen *in vivo* (Kwon *et al.*, 2019). Studi aktivitas struktural dapat membantu memutuskan fitur mana dari molekul yang memengaruhi aktivitas keseluruhannya dan membantu membuat sifat senyawa yang dimodifikasi meningkat (Leach, 2001).

2.7.1. Pendekatan HKSA

Interaksi obat dengan aktivitas biologisnya ditentukan oleh gaya antarmolekul, seperti interaksi hidrofobik, polar, elektrostatik, dan sterik. Model HKSA yang diperoleh menggambarkan ketergantungan struktural aktivitas biologis dengan parameter fisikokimia (analisis Hansch), dengan variabel indikator pengkodean fitur struktural yang berbeda (analisis Free-Wilson), atau dengan profil properti molekul tiga dimensi dari senyawa (*comparative molecular field analysis*, CoMFA) (Kubinyi, 1993).

Aktivitas biologis sebagian besar obat, bagaimanapun, terkait dengan kombinasi sifat fisikokimia. Dalam situasi tersebut, persamaan sederhana yang hanya melibatkan satu parameter relevan jika parameter lainnya tetap konstan. Pada kenyataannya, hal ini tidak mudah untuk dicapai dan persamaan yang menghubungkan aktivitas biologis dengan sejumlah parameter yang berbeda. Persamaan ini disebut persamaan Hansch dan menghubungkan aktivitas biologis dengan sifat fisikokimia yang paling umum digunakan ($\log P$, π , σ , dan faktor sterik) (Patrick, 2013). Asumsi dasar dalam pendekatan Hansch adalah bahwa kontribusi terhadap parameter elektronik (σ) dan $\log P$ dari beberapa kelompok substituen dalam senyawa induk yang sama adalah aditif, yang berarti bahwa substituen bersifat independen (efek dari kelompok substituen pada satu posisi dalam molekul induk tidak memengaruhi substitusi pada posisi lain). Namun, asumsi ini dapat diabaikan misalnya, ketika ikatan hidrogen terjadi antara dua kelompok yang berdekatan. Sehingga dapat digunakan parameter lainnya, seperti parameter sterik (Ferreira, 2002).

Dengan persamaan multiparameter dimungkinkan untuk menggambarkan keterkaitan yang lebih kompleks dari aktivitas biologis pada sifat fisikokimia. Dalam tiga dekade terakhir hampir semua kombinasi parameter lipofilik, polarisasi, elektronik, dan sterik yang mungkin dengan dan tanpa variabel indikator tambahan, telah digunakan dan berkorelasi dengan nilai aktivitas biologis dalam persamaan linier, parabola, dan bilinear (Kubinyi, 1993).

2.7.2. Parameter Fisikokimia

Deskriptor molekuler adalah indeks numerik yang mengkodekan informasi yang terkait dengan struktur molekul dan digunakan sebagai variabel bebas dalam langkah pemodelan berikutnya. Deskriptor dapat berupa sifat fisikokimia eksperimental molekul dan indeks teoretis yang dihitung dengan rumus matematika dan algoritma komputer dari struktur molekul (Todeschini and Consonni, 2020). Parameter fisikokimia dalam pendekatan HKSA adalah sifat hidrofobik, elektronik, dan sterik. Sifat hidrofobik dapat dengan mudah diukur untuk molekul lengkap atau substituen individu. Namun, lebih sulit untuk mengukur sifat elektronik dan sterik untuk molekul lengkap, dan ini hanya benar-benar layak untuk substituen individu. Maka, studi HKSA pada berbagai struktur yang sangat berbeda relatif jarang dan terbatas pada studi tentang hidrofobitas (Patrick, 2013).

A. Parameter Hidrofobik (π)

Hidrofobitas didefinisikan oleh partisi senyawa antara fase polar dan fase non-polar. Sementara definisi awal koefisien partisi mengacu pada fase ‘ringan’ dan ‘berat’ (mengakibatkan komplikasi dalam kasus pelarut organik yang memiliki densitas lebih tinggi daripada air), saat ini P didefinisikan sebagai rasio konsentrasi zat dalam fasa organik dan air pada sistem dua kompartemen dalam kondisi kesetimbangan (Kubinyi, 1993). Koefisien partisi (P) dapat diukur secara eksperimental dengan menguji distribusi relatif obat dalam campuran n -oktanol/air (persamaan {1}). Distribusi relatif dikenal sebagai koefisien partisi dan diperoleh persamaan berikut (Patrick, 2013):

$$P = \frac{\text{Concentration of drug in octanol}}{\text{Concentration of drug in aqueous solution}} \quad \{1\}$$

Koefisien partisi dapat dihitung dengan mengetahui kontribusi berbagai substituen terhadap hidrofobitas, yang dikenal sebagai konstanta hidrofobitas substituen (π) dan merupakan ukuran hidrofobitas suatu substituen relatif terhadap hidrogen. Nilai positif π mengindikasikan bahwa substituen lebih hidrofobik daripada hidrogen dan sebaliknya dengan nilai negatif (Patrick, 2013).

B. Parameter Elektronik (σ)

Efek elektronik dari berbagai substituen jelas akan berpengaruh pada ionisasi atau polaritas obat. Konstanta substituen Hammett (σ) adalah ukuran kemampuan penarikan elektron atau pendonor elektron dari suatu substituen (Patrick, 2013). Beberapa parameter elektronik adalah momen dipol, parameter dari kalkulasi kimia kuantum seperti energi orbital dan muatan parsial (Kubinyi, 1993).

C. Parameter Sterik

Sifat sterik memengaruhi energi molekul, reaksi, dan jalur konformasi, laju reaksi dan kesetimbangan, afinitas pengikatan antara ligan dan reseptor, dan sifat termodinamika lainnya (Kubinyi, 1993). Massa, ukuran, dan bentuk obat akan memengaruhi seberapa mudah obat dapat mendekati dan berinteraksi dengan tempat pengikatan. Sifat sterik lebih sulit diukur daripada sifat hidrofobik atau elektronik. Salah satu faktor sterik adalah refraktivitas molar (MR). Refraktivitas molar adalah ukuran volume yang ditempati oleh atom atau sekelompok atom (Patrick, 2013).

2.7.3. Optimasi Geometri

Parameterisasi pendekatan semiempiris biasanya mencakup variabel geometris, momen dipol, energi ionisasi, dan panas pembentukan (*heat of formation*). Kinerja metode semiempiris yang berhasil secara bertahap meningkat dari satu metode ke metode lain, meskipun harus diingat bahwa hasil abnormal dapat diperoleh untuk jenis sistem tertentu (Leach, 2001). Keuntungan dari perhitungan semiempiris adalah bahwa mereka jauh lebih cepat dari perhitungan *ab initio*. Kerugiannya adalah hasil bisa tidak menentu dan lebih sedikit sifat yang dapat diprediksi dengan andal (Young, 2001). Beberapa metode optimasi geometri dengan pendekatan semiempiris adalah MNDO, AM1 dan PM3.

A. MNDO

Metode *Modified Neglect of Diatomic Overlap* (MNDO) memberikan hasil kualitatif yang logis untuk banyak sistem organik. Metode ini termasuk metode semiempiris yang populer, namun metode AM1 dan PM3 yang lebih akurat telah melampaui popularitasnya (Young, 2001).

B. AM1

Metode *Austin Model 1* (AM1) merupakan metode semiempiris yang umumnya memprediksi pembentukan energi panas (ΔH_f) lebih akurat daripada MNDO, meski beberapa pengecualian yang melibatkan atom Br. Pembentukan energi panas yang diprediksi cenderung tidak akurat untuk molekul dengan lokalisasi muatan dalam jumlah besar (Young, 2001). AM1 dirancang untuk menghilangkan masalah pada MNDO, yang dianggap muncul dari kecenderungan untuk melebih-lebihkan tolakan antara atom yang dipisahkan oleh jarak yang diperkirakan sama dengan jumlah jari-jari van der Waals. Strategi yang diadopsi adalah memodifikasi istilah inti-inti menggunakan fungsi Gaussian (Leach, 2001).

C. PM3

Parameterization method 3 (PM3) menggunakan persamaan yang hampir sama dengan metode AM1. PM3 lebih akurat daripada AM1 untuk sudut ikatan hidrogen, tetapi AM1 lebih akurat untuk energi ikatan hidrogen. Pembentukan energi panas secara keseluruhan lebih akurat dibandingkan dengan MNDO atau AM1. PM3 memprediksi energi dan panjang ikatan lebih akurat daripada AM1 atau MNDO (Young, 2001). Parameter untuk model PM3 diturunkan menggunakan prosedur parameterisasi otomatis. Sebaliknya, banyak parameter dalam AM1 diperoleh dengan menerapkan pengetahuan kimia dan 'intuisi'. Maka dari itu, beberapa parameter memiliki nilai yang berbeda secara signifikan dalam AM1 dan PM3, meskipun kedua metode menggunakan bentuk fungsional yang sama dan keduanya memprediksi berbagai sifat termodinamika dan struktural untuk tingkat akurasi yang hampir sama (Leach, 2001).

2.7.4. Analisis Statistik HKSA

Mengembangkan hubungan matematika yang memetakan satu set deskriptor terhadap aktivitas biologis senyawa disebut "*Model Building*" dalam analisis HKSA. Deskriptor molekul yang dipilih digunakan untuk tujuan prosedur pemodelan. Dalam pendekatan pemodelan HKSA, tujuan utamanya adalah untuk membangun model berdasarkan deskriptor yang paling relevan yang memiliki korelasi tertinggi dengan nilai titik akhir. Model yang paling menguntungkan

adalah model yang memiliki jumlah deskriptor minimum yang mampu menggambarkan sebagian besar data aktivitas yang terlihat untuk senyawa yang diteliti (Dastmaslchi, Hamzeh-Mivehroud, and Sokouti, 2018).

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \dots + \beta_n X_n \quad \{2\}$$

Keterangan:

β_0 adalah konstanta model (seperti intersep);

Y adalah variabel terikat;

X_1, X_2, \dots, X_n adalah variabel bebas yang mewakili parameter molekuler dengan koefisiennya $\beta_1, \beta_2, \dots, \beta_n$.

Analisis statistika dalam HKSA dapat dilakukan dengan metode linier diantaranya seperti MLR. Regresi linier berganda atau *multiple linear regression* (MLR) merupakan bentuk regresi linier yang paling sederhana yang didasarkan pada persamaan dua dimensi (yaitu, $Y = ax + b$) antara variabel terikat (Y) dan bebas (X) (persamaan {2}). Pentingnya deskriptor molekul sebagai variabel terikat dalam menggambarkan kegiatan biologis ditentukan melalui besarnya koefisien deskriptor (Dastmaslchi, Hamzeh-Mivehroud, and Sokouti, 2018).

2.7.5. Validasi Model HKSA

Setelah menghasilkan model HKSA, prosedur validasi biasanya dilakukan untuk memilih model HKSA. Metode *leave-one-out* (LOO) *cross validation* sering digunakan untuk evaluasi model HKSA, satu senyawa dikeluarkan dari seluruh kumpulan data diikuti dengan melatih model menggunakan sisa molekul yang dipelajari. Dalam metode ini, semua senyawa akan dihilangkan satu per satu sampai semua nilai aktivitas diprediksi. Q^2 digunakan untuk menentukan kemampuan prediksi model dalam metode LOO (persamaan {3}). Nilai minimal Q^2 yang diterima adalah 0,5. (Dastmaslchi, Hamzeh-Miverhroud, and Sokouti, 2018).

$$Q^2 = 1 - \frac{\sum(Y_{obs(train)} - Y_{pred(train)})^2}{\sum(Y_{obs(train)} - \bar{Y}_{(train)})^2} \quad \{3\}$$

Keterangan:

Y_{obs} adalah nilai observasi aktivitas;

Y_{pred} adalah nilai prediksi aktivitas;

\bar{Y} adalah nilai aktivitas rata-rata.

2.8. Penambatan Molekul

Penambatan molekul adalah metode berbasis struktur *in silico* yang banyak diterapkan dalam penemuan obat. Penambatan molekul memungkinkan identifikasi senyawa baru untuk kepentingan terapeutik, memprediksi interaksi ligan dan target pada tingkat molekuler, atau menggambarkan hubungan struktur–aktivitas (Pinzi and Rastelli, 2019). Pengikatan ligan ke protein dapat dikaitkan dengan model “*lock-and-key*”, di mana *key* (inhibitor) yang tepat mengandung pola (konformasi) yang tepat agar sesuai dengan *lock* (situs reseptor) (Anwar, Kumar, and Khan, 2021). Pendekatan paling sederhana untuk *docking* otomatis adalah memperlakukan ligan dan target makromolekul sebagai benda *rigid*. Situasi yang paling kompleks adalah di mana ligan dan target dianggap fleksibel. Sebagian besar dilakukan dengan mengasumsikan target yang kaku. Perhitungan yang diperlukan dengan *docking* dan *scoring* harus cepat untuk memproses jumlah molekul yang terlibat dalam jangka waktu yang wajar, tetapi juga harus cukup akurat untuk memberikan ukuran yang baik dari energi pengikat relatif (Patrick, 2013).

2.9. HyperChem

HyperChem adalah aplikasi kimia komputasi yang relatif mudah digunakan yang secara langsung menampilkan struktur kimia dan sifat fisikokimianya (Ananto, Mudasir, dan Armunanto, 2020). HyperChem lebih mudah digunakan daripada program kimia kuantum lainnya karena memvisualisasikan hasil kimia kuantum, mekanika, dan perhitungan dinamika molekul dalam bentuk 3D. HyperChem menawarkan sepuluh metode molekuler orbital semiempirik, yaitu *Extende Huckel*, CNDO dan INDO, MNDO3, MNDO, MNDO/d dan AM1, PM3, ZINDO/1 dan ZINDO/S (Pranowo, 2003).

HyperChem memungkinkan untuk eksplorasi model energi permukaan potensial klasik atau kuantum dengan *single point*, optimasi geometri, atau perhitungan untuk keadaan transisi. Perhitungan optimasi geometri menggunakan algoritma minimisasi energi untuk mendapatkan struktur yang paling stabil. Menentukan struktur molekul yang stabil adalah langkah komputasi yang paling umum dalam pemodelan molekul. Energi relatif dari struktur teroptimasi yang

berbeda pada penentuan kestabilan konformasi, keseimbangan isomerisasi, panas reaksi, produk reaksi dan banyak aspek lain dari kimia. HyperChem mempunyai beberapa jenis metode optimasi, yaitu (Pranowo, 2003):

1. *A steepest descent*, dikhususkan untuk perhitungan yang cepat untuk menghilangkan sterik yang berlebihan dan masalah tolakan pada struktur awal.
2. *Conjugate gradient* (Fletcher-Reeves dan Polak-Ribiere) untuk mencapai konvergensi yang efisien.
3. *Block-diagonal Newton-Raphson* (hanya untuk MM+), di mana informasi turunan keduanya digunakan untuk memindahkan satu atom pada suatu waktu.

2.10. UCSF DOCK

DOCK adalah program pemodelan molekul yang digunakan untuk mengidentifikasi potensi geometri pengikatan dan interaksi molekul dengan target. DOCK menggunakan algoritma konstruksi inkremental, *anchor-and-grow*, yang memisahkan fleksibilitas ligan menjadi dua langkah. Pertama, substruktur kaku terbesar dari ligan (*anchor*) diidentifikasi dan diorientasikan secara *rigid* di situs aktif dengan mencocokkan pusat atomnya dengan pusat bola reseptor (orientasi). Orientasi *anchor* dievaluasi dan dioptimalkan menggunakan fungsi penilaian dan minimisasi energi. Orientasi tersebut kemudian diberi peringkat sesuai dengan skornya. Selanjutnya, bagian ligan fleksibel yang tersisa dibangun pada orientasi *anchor* terbaik dalam konteks reseptor (*grow*) (Moustakas *et al.*, 2006).

Kualitas geometri yang mengikat (*pose*) biasanya ditentukan dengan skor energi berbasis fisika. Skor yang paling efisien secara komputasi adalah skor *grid* menggunakan medan gaya (*force field*) (Brozell *et al.*, 2012). Salah satu kelemahan utama dari fungsi ini adalah tidak mempertimbangkan gugus bermuatan mendukung lingkungan polar sedangkan gugus non-polar cenderung tetap berada di lingkungan non-polar, biasanya disebut efek desolvasi (Sethi *et al.*, 2020). DOCK 6.9 menggunakan *force field-based scoring function* atau fungsi penilaian berbasis medan gaya. Dengan menerapkan medan gaya berbasis mekanik molekul (MM), energi antarmolekul ini dapat dihitung dan digunakan untuk menilai *pose* tambat. Selain interaksi van der Waals, elektrostatik, dan ikatan hidrogen, beberapa fungsi

penilaian juga mencakup energi intramolekul ligan. Karena konformasi ligan yang sangat bervariasi antara keadaan terikat dan tidak terikat, ligan biasanya memperoleh energi regangan setelah penambatan (Anwar, Kumar and Khan, 2021).

2.11. UCSF Chimera

UCSF Chimera (disebut sebagai “Chimera”) adalah program grafis molekuler yang dirancang untuk memaksimalkan visualisasi dan kolaborasi interaktif. *Chimera* memungkinkan pengguna dengan mudah menulis alat tambahan untuk memperluas kemampuannya (Couch, Hendrix, and Ferrin, 2006).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental yang dilaksanakan pada bulan Juni hingga bulan Agustus di Laboratorium Komputer Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Pakuan, Bogor.

3.2. Variabel Penelitian

A. Variabel Bebas

Variabel bebas adalah variabel yang memengaruhi variabel yang lain. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah nilai deskriptor atau parameter fisikokimia dari model senyawa analog O-metil kuersetin.

B. Variabel Terikat

Variabel terikat adalah variabel yang dipengaruhi oleh variabel lainnya, tetapi tidak dapat memengaruhi variabel lainnya. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah nilai IC_{50} aktivitas antiproliferasi senyawa analog O-metil kuersetin.

3.3. Alat dan Bahan

3.3.1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi perangkat keras (*hardware*) dan perangkat lunak (*software*).

A. Perangkat Keras

Perangkat keras yang digunakan berupa laptop Dell Inspiron 14 3000 series dengan prosesor Intel® Core™ i5-5200U CPU @ 2,20 GHz, RAM 8 GB, SSD 250 GB, and *full display device* Intel® HD Graphics 5500.

B. Perangkat Lunak

Sistem operasi yang digunakan adalah Windows 10 Pro 64 *bit* dan Ubuntu 22.04. Perangkat lunak untuk pemodelan dan perhitungan deskriptor adalah

ChemDraw Professional 16.0 dan HyperChem™ 8.0.7. Data statistik dianalisis dengan IBM® SPSS® Statistic Version 24, dan Microsoft® Excel™ 2019. Program yang digunakan untuk penambatan molekul adalah UCSF DOCK 6.9, untuk visualisasi hasil penambatan molekul digunakan Discovery Studio Visualizer dan UCSF Chimera v.1.16.

3.3.2. Bahan

Data yang digunakan adalah data aktivitas antiproliferasi dari 17 senyawa kuersetin dan analog O-metil kuersetin yang diuji secara *in vitro* pada sel kanker paru A549 dalam jurnal penelitian Shi et al., (2014) yang berjudul “*Biological Evaluation and SAR Analysis of O-Methylated Analogs of Quercetin as Inhibitors of Cancer Cell Proliferation*”. Protein target *epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase* (EGFR-TK) diunduh dari Protein Data Bank (www.rcsb.org) dengan PDB ID: 1M17.

3.4. Prosedur Penelitian

Penelitian ini akan dimulai dari menentukan model persamaan HKSA, dilanjutkan modifikasi senyawa acuan dengan O-alkilamino dan prediksi nilai aktivitasnya, dan diakhiri dengan penambatan molekul untuk mendapatkan nilai afinitas senyawa. Alur penelitian tertera pada Lampiran 1.

3.4.1. Analisis HKSA

A. Menggambar Struktur

Pembuatan struktur 2 dimensi dari senyawa kuersetin dan 15 senyawa analog O-metil kuersetin menggunakan program ChemDraw Professional 16.0, *file* disimpan dalam format *mol*.

B. Optimasi Geometri

Setelah 15 analog senyawa analog O-metil kuersetin dibuat dalam bentuk 2 dimensi, dilakukan optimasi geometri berupa minimisasi energi pada masing-masing struktur dengan program HyperChem untuk memperoleh konformasi

struktur yang paling stabil. Dimulai dengan menambahkan atom H menggunakan perintah *Add H & model Build*. Optimasi struktur molekul dilakukan dengan metode semiempiris *parameterization method 3* (PM3) dengan algoritma *Polak-Ribiere* dan batas konvergensi 0,1 kcal/(Å mol). Hasil optimasi disimpan dalam format *.log* dengan perintah *Start log*, dan pilih *Stop log* untuk mengakhiri proses perekaman hasil perhitungan.

C. Perhitungan Deskriptor

Perhitungan deskriptor dilihat pada menu *QSAR Properties*, yang mencakup data luas permukaan (*surface area*), polarisabilitas molekul (*polarizability*), energi hidrasi (*hydration energy*), volume, log P, dan refraktivitas molar (*refractivity*). Data energi total, energi ikatan, energi elektronik, panas pembentukan (*heat of formation*), dan momen dipol didapatkan dari menu *Molecule Properties*. Data E_{HOMO} , dan E_{LUMO} diperoleh dari menu *Orbitals*.

D. Analisis Statistika HKSA

Analisis statistika regresi linier berganda (MLR) dengan metode *backward* dilakukan dengan program SPSS Statistik 24 di mana variabel terikat berupa logaritma nilai aktivitas senyawa (LogIC_{50}) dan variabel bebas berupa nilai 14 deskriptor. Semua variabel dianalisis untuk mengetahui urutan variabel bebas mana yang berpengaruh terhadap aktivitas senyawa. Beberapa persamaan yang dihasilkan menggambarkan HKSA senyawa analog O-metil kuersetin. Model persamaan yang memiliki koefisien korelasi $R \geq 0,9$ diteruskan dengan melakukan kombinasi variabel bebas yang memiliki korelasi antar variabel yang kuat sebagai model persamaan alternatif, dengan pertimbangan nilai $R \geq 0,7$ dan F ($F_{\text{hitung}}/F_{\text{tabel}} > 1$, untuk tingkat kepercayaan 95%) (Kubinyi, 1993).

E. Validasi Model HKSA

Validasi silang LOO (*Leave-One-Out*) dilakukan untuk memperoleh satu persamaan HKSA. Validasi dilakukan dengan mengeluarkan data senyawa satu per satu dan memasukkan koefisien dari regresi linier. Kriteria persamaan HKSA yang baik adalah memiliki nilai $Q^2 \geq 0,5$ (Dastmaslchi, Hamzeh-Mivehroud, and Sokouti, 2018). Skema HKSA terdapat pada Lampiran 2.

3.4.2. Desain Senyawa Baru

Model persamaan HKSA yang terbaik digunakan untuk mendesain senyawa analog O-metil kuersetin yang baru. Desain senyawa dilakukan dengan memodifikasi tipe dan letak substituen pada senyawa induknya. Kemudian dioptimasi serta dihitung nilai deskriptornya dengan program HyperChem hingga didapatkan nilai IC₅₀ prediksi.

3.4.3. Penambatan Molekul

A. Penyiapan Reseptor

Diawali dengan menyiapkan struktur reseptor dan ligan yang akan digunakan. Struktur reseptor diperoleh dari Protein Data Bank (PDB) dengan PDB ID: 1M17, yang merupakan struktur protein dari EGFR yang terkompleks dengan 4-anilinoquinazolin (erlotinib) dengan resolusi 2,60 Å yang terdapat pada manusia (*Homo sapiens*) diperoleh dari *X-ray Diffraction* dan diunduh dalam format PDB.

Molekul air dihilangkan dengan program Discovery Studio Visualizer, agar tidak mengganggu proses penambatan. Kemudian dilakukan pemisahan antara reseptor dengan ligan alami yang terkompleks, dan disimpan masing-masing dalam format *pdb*.

B. Penyiapan Ligan

Ligan yang digunakan diantaranya adalah erlotinib sebagai ligan alami, kuersetin sebagai ligan pembanding, dan 15 senyawa turunan O-metil kuersetin serta 5 senyawa baru dengan substitusi O-alkilamino sebagai ligan uji. Ligan pembanding dan ligan uji dibangun dengan program ChemDraw Professional dan dioptimasi dengan metode PM3 menggunakan program HyperChem.

C. Validasi Metode Penambatan (*Redocking*)

Validasi metode penambatan molekul dilakukan dengan metode *redocking*, yaitu menambatkan kembali ligan alami erlotinib pada reseptor EGFR-TK. Validasi metode dilakukan menggunakan program DOCK 6.9 untuk memastikan metode penambatan molekul yang digunakan telah memenuhi syarat. Parameter yang digunakan adalah melihat nilai *Root Mean Square*

Deviation (RMSD), jika $< 2 \text{ \AA}$, maka metode penambatan dinyatakan valid dan dapat digunakan untuk penambatan molekul.

D. Penambatan Molekul dengan DOCK 6.9

Penambatan molekul menggunakan perangkat lunak DOCK 6.9 ditujukan untuk membandingkan hasil penambatan ligan uji (senyawa baru tersubstitusi O-alkilamino) dan ligan pembanding. Diawali dengan preparasi ligan dan reseptor menggunakan perangkat lunak Chimera. Ligan ditambahkan hidrogen dan muatan medan gaya AMBER ff14SB dengan menu '*Tools*→*Structure Editing*→*Dock Prep*' dan disimpan dalam format *mol2*. Reseptor juga disimpan dalam format *mol2* untuk digunakan pada proses penambatan.

Reseptor 1M17 tanpa atom hidrogen disiapkan untuk menentukan *sphere* disekitar permukaan protein. Identifikasi *sphere* didasarkan pada letak ligan alami dengan RMSD 5 \AA . Dimulai dengan memvisualisasikan kantong pengikatan protein dengan '*File*→*Open*→*Actions*→*Surface*→*Show*' dan disimpan dengan '*Tools*→*Structure Editing*→*Write DMS*'. Sebelum dihasilkan *sphere*, dibuat *file* input menggunakan properti yang telah dijalankan sebelumnya, dengan '*vi INSPH*' pada command prompt Ubuntu. Untuk mendapatkan output *sph*, dijalankan perintah '**sphgen -i INSPH -o OUTSPH**'. Dilanjutkan dengan perintah '**sphere_selector [file.sph] [ligan dengan hidrogen.mol2] 5.0**' untuk mendapatkan output *selected_sphere.sph*. Digunakan Showbox untuk menghasilkan kotak disekitar molekul, dengan perintah '*vi showbox.in*', untuk mendapatkan output *box.pdb* dijalankan perintah '*showbox < showbox.in*'. *Box file* akan digunakan dalam perintah selanjutnya, yaitu dalam membangun *grid* dengan perintah '*vi grid.in*', kemudian '*grid -i grid.in -o gridinfo.out*'.

Sebelum penambatan molekul, dilakukan minimisasi energi dengan perintah '*dock6 -i min.in -o min.out*'. Kemudian, penambatan molekul fleksibel di mana ligan memiliki kebebasan rotasi penuh, dengan perintah '*dock6 -i flex.in -o flex.out*'. Nilai *grid_score* dan RMSD dapat dilihat dengan menu *View Dock* program Chimera.

E. Analisis dan Visualisasi Hasil Penambatan Molekul

Hasil penambatan molekul dengan output *_scored.mol2* dapat dilihat dengan program Chimera menggunakan alat *ViewDock* pada menu '*Tools → Surface/Binding Analysis*' yang akan menunjukkan skor *grid* dan RMSD. Penentuan konformasi ligan hasil penambatan molekul dilakukan dengan memilih konformasi ligan yang memiliki kesamaan interaksi dengan referensi ligan (ligan alami) seperti ikatan hidrogen, van der Waals, dan ionik. Penentuan konformasi ligan dapat dilihat dengan program Discovery Studio Visualizer baik dengan bentuk 2D maupun 3D. Kemudian dilihat kesesuaian ruang dan pose ligan pada reseptor.

Analisis nilai energi terendah dilakukan pada tahap akhir dikarenakan nilai energi ikatan menjadi tidak bermakna jika ligan tambat tidak memiliki aktivitas biologis yang sama dengan ligan pembanding karena yang diharapkan adalah ligan tambat memiliki interaksi yang sama dengan ligan pembanding saat di dalam makromolekul protein. Skema penambatan molekul terdapat pada Lampiran 3.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

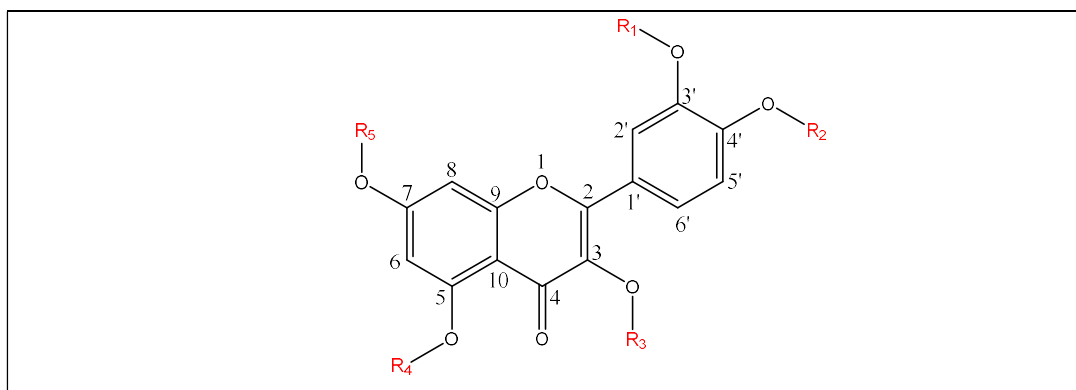
4.1. Hubungan Kuantitatif Struktur dan Aktivitas

4.1.1. Pemilihan *Data Set*

Sebanyak 16 senyawa analog O-metil kuersetin dan 1 senyawa kuersetin telah disintesis dan dideterminasi secara *in vitro* pada 16 barisan sel kanker (*cancer cells line*) diantaranya sel kanker paru-paru, leher dan kepala, melanoma, payudara, dan serviks dengan metode *high-throughput screening* (HTS) untuk mengetahui aktivitas penghambatan proliferasi sel. Hasil aktivitas penghambatan proliferasi sel kanker yang dilakukan terhadap sel kanker paru A549 memiliki nilai IC_{50} yang lebih kecil dibandingkan hasil terhadap sel kanker lainnya (Shi *et al.*, 2014). Dengan pertimbangan tersebut, nilai aktivitas penghambatan proliferasi terhadap sel kanker paru A549 digunakan sebagai *data set* pada penelitian ini.

Nilai IC_{50} didefinisikan sebagai konsentrasi senyawa yang membunuh 50% dari total populasi sel dibandingkan dengan sel kontrol pada akhir masa inkubasi. Nilai IC_{50} barisan sel (*cell lines*) diklasifikasikan menjadi: sensitif ($\leq 1 \mu\text{M}$), agak sensitif atau moderat ($1-10 \mu\text{M}$), dan resisten ($>10 \mu\text{M}$) terhadap senyawa (Noro *et al.*, 2006). Struktur dasar kuersetin yang dapat dilihat pada Gambar 5, dimodifikasi gugusnya dengan substituen sesuai dengan yang tertera pada Tabel 3 yang menjabarkan nilai aktivitas anti-proliferasi 17 senyawa turunan kuersetin terhadap sel kanker paru. Dari 17 senyawa O-metil kuersetin, 12 diantaranya termasuk agak sensitif atau moderat dengan nilai aktivitas penghambatan proliferasi berupa IC_{50} berkisar antara $2,63 - 8,14 \mu\text{M}$. Empat dari 17 senyawa termasuk resisten dengan nilai IC_{50} berkisar antara $10,32 - 23,72 \mu\text{M}$. Dan 1 dari 17 senyawa tidak menunjukkan nilai IC_{50} ($>50 \mu\text{M}$), yaitu senyawa QC16 (retusin) sehingga tidak digunakan dalam *data set*. Senyawa QC1 (kuersetin) juga tidak digunakan dalam *data set* karena dalam penelitian ini data yang akan digunakan adalah data senyawa analog kuersetin yang

tersubstitusi O-metil. Dengan demikian, dari 17 senyawa pada Tabel 3, dipilih 15 senyawa yang akan digunakan sebagai *data set*.



Gambar 5. Struktur dasar dengan gugus Rn adalah substituen seperti pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai IC₅₀ (μM) aktivitas anti-proliferasi senyawa turunan kuersetin terhadap sel kanker paru A549

No	Kode	Senyawa	Substituen					IC ₅₀ (μM)	LogIC ₅₀
			R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅		
1	QC1	Quercetin	H	H	H	H	H	6,20	0,7924
2	QC2	Isorhamnetin	CH ₃	H	H	H	H	10,78	1,0326
3	QC3	Tamarixetin	H	CH ₃	H	H	H	2,63	0,42
4	QC4	3-O-methylquercetin	H	H	CH ₃	H	H	8,14	0,9106
5	QC5	Azaleatin	H	H	H	CH ₃	H	6,26	0,7966
6	QC6	Rhamnetin	H	H	H	H	CH ₃	3,08	0,4886
7	QC7	5,3'-O-dimethylquercetin	CH ₃	H	H	CH ₃	H	3,14	0,4969
8	QC8	3,7-O-dimethylquercetin	H	H	CH ₃	H	CH ₃	5,40	0,7324
9	QC9	Dillenetin	CH ₃	CH ₃	H	H	H	6,29	0,7987
10	QC10	3,5-O-dimethylquercetin	H	H	CH ₃	CH ₃	H	10,32	1,0137
11	QC11	5,7-O-dimethylquercetin	H	H	H	CH ₃	CH ₃	6,67	0,8241
12	QC12	Ombuin	H	CH ₃	H	H	CH ₃	3,07	0,4871
13	QC13	Ayanin	H	CH ₃	CH ₃	H	CH ₃	20,79	1,3179
14	QC14	5,3',4'-tri-O-methylquercetin	CH ₃	CH ₃	H	CH ₃	H	4,66	0,6684
15	QC15	Quercetin 7,3',4'-trimethyl ether	CH ₃	CH ₃	H	H	CH ₃	5,90	0,7709
16	QC16	Retusin	CH ₃	CH ₃	CH ₃	H	CH ₃	>50	-
17	QC17	Quercetin 3,5,7,3',4'-pentamethyl ether	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	CH ₃	23,72	1,3751

4.1.2. Perhitungan Sifat Fisikokimia dengan Metode PM3

Perhitungan sifat fisikokimia diawali dengan melakukan optimasi geometri, juga dikenal sebagai minimisasi energi terhadap struktur senyawa. Ini merupakan proses mengubah geometri molekul untuk menurunkan energi dan menghasilkan konformasi yang lebih stabil. Pada penelitian ini, metode optimasi geometri yang digunakan adalah *parameterized method 3* (PM3), diproses dengan menggunakan program HyperChem. PM3 dipilih sebagai optimasi geometri metode semiempiris dasar karena banyak digunakan, didasarkan pada teori Hartree-Fock, dan memiliki fitur yang memanfaatkan prosedur *self-confident field* (SCF) (Zhou *et al.*, 2022).

Proses minimisasi energi biasanya dilakukan dengan program mekanika molekuler yang menghitung energi molekul awal, kemudian memvariasikan panjang ikatan, sudut ikatan, dan sudut torsi untuk menciptakan struktur baru. Jika struktur awal secara inheren tidak stabil, sedikit perubahan pada sudut ikatan atau panjang ikatan dapat memiliki efek besar pada energi keseluruhan molekul, menghasilkan perbedaan energi (ΔE) yang signifikan. Program melakukan perubahan yang mengarah pada stabilisasi. Akhirnya, sebuah struktur ditemukan di mana variasi struktural hanya menghasilkan sedikit perubahan energi minimum dan akan berhenti, diinterpretasikan sebagai yang paling stabil (Patrick, 2013).

Proses optimasi geometri diawali dengan membangun struktur 2D menggunakan program ChemDraw Professional dan diubah menjadi struktur 3D dengan program HyperChem. Proses ini melibatkan penambahan atom hidrogen untuk menggambarkan bentuk senyawa yang sebenarnya saat berinteraksi dengan reseptor. Optimasi geometri dilakukan setelah struktur senyawa berbentuk 3D. Konformasi senyawa yang stabil diperoleh melalui proses iterasi hingga batas konvergensi tercapai. Selama iterasi, terjadi perhitungan energi selama perubahan konformasi senyawa. Batas konvergensi yang digunakan dalam penelitian ini adalah 0,1 kkal/ \AA mol. Pencapaian batas konvergensi menunjukkan bahwa senyawa yang stabil dengan energi potensial terendah telah berhasil diperoleh. Kondisi senyawa yang stabil mencerminkan struktur dan jarak antar atom yang diharapkan dapat membentuk ikatan optimum dengan reseptor.

4.1.3. Perhitungan Deskriptor

Dalam membangun model HKSA diperlukan deskriptor yang menunjukkan sifat fisikokimia molekul. Pada penelitian ini dipilih deskriptor yang mewakili parameter persamaan Hansch, yaitu parameter hidrofobik, elektronik, dan sterik.

Tabel 4. Rekapitulasi nilai deskriptor hidrofobik dan deskriptor sterik

Kode	Hidrofobik			Sterik		
	log P	Panas Pembentukan (kkal/mol)	SAA (Å ²)	SAG (Å ²)	Refraktivitas (Å ³)	Molar Volume (Å ³)
QC2	-3,981	-219,6104	404,013	498,804	87,938	821,115
QC3	-3,981	-217,0653	407,908	501,456	87,938	822,934
QC4	-3,981	-169,2159	357,329	507,550	87,938	839,043
QC5	-3,981	-208,1270	400,850	484,396	87,938	810,861
QC6	-3,981	-217,8947	407,371	492,534	87,938	811,823
QC7	-3,949	-202,5358	441,863	526,429	92,707	876, 115
QC8	-3,949	-162,0914	401,996	544,003	92,707	895,701
QC9	-3,949	-209,2738	440,062	521,531	92,707	870,653
QC10	-3,949	-151,6564	392,343	548,309	92,707	906,431
QC11	-3,949	-200,8729	444,591	517,613	92,707	865,737
QC12	-3,949	-207,8881	444,850	522,419	92,707	866,129
QC13	-3,918	-152,5533	433,231	582,605	97,476	962,374
QC14	-3,918	-191,7244	476,067	538,97	97,476	919,749
QC15	-3,918	-203,0709	488,282	558,911	97,476	930,906
QC17	-3,854	-128,3908	551,938	619,903	107,015	1055,29

Keterangan: **QC2** (*Isorhamnetin*); **QC3** (*Tamarixetin*); **QC4** (*3-O-Methylquercetin*); **QC5** (*Azaleatin*); **QC6** (*Rhamnetin*); **QC7** (*5,3'-O-Dimethylquercetin*); **QC8** (*3,7-O-Dimethylquercetin*); **QC9** (*Dillenetin*); **QC10** (*3,5-O-Dimethylquercetin*); **QC11** (*5,7-O-Dimethylquercetin*); **QC12** (*Ombuin*); **QC13** (*Ayanin*); **QC14** (*5,3',4'-Tri-O-Methylquercetin*); **QC15** (*Quercetin 7,3',4'-Trimethyl Ether*); dan **QC17** (*Quercetin 3,5,7,3',4'-Pentamethyl Ether*); SAA adalah *surface area (approximation)*; SAG adalah *surface area (grid)*.

Parameter hidrofobik yang digunakan adalah log P. Hidrofobitas merupakan faktor penting yang mengatur partisi membran pasif dan metrik hidrofobitas yang sering digunakan untuk memprediksi penyerapan obat. Prediksi log P berbasis atom mengambil kontribusi masing-masing atom ke log P senyawa

dan menggabungkannya secara aditif (Bennion *et al.*, 2017). Nilai log P atau koefisien partisi (P) didefinisikan sebagai rasio konsentrasi zat dalam fase organik dan fasa air pada sistem kompartemen dalam kondisi seimbang (Kubinyi, 1993). Nilai positif mengindikasikan bahwa substituen lebih hidrofobik, dan nilai negatif mengindikasikan bahwa substituen kurang hidrofobik (Patrick, 2013). Dari 15 senyawa analog O-metil kuersetin nilai log P yang tertera pada Tabel 4, berkisar antara -3,854 hingga -3,981, lebih besar dibanding nilai log P dari kuersetin, sebesar -4,013. Hal ini menunjukkan semakin banyak substituen metil, maka kepolaran senyawa semakin berkurang. Berdasarkan *rule of five*, senyawa kemungkinan besar memiliki penyerapan yang baik ketika nilai kalkulasi log P <5 (Mannhold, 2008). Dengan demikian nilai kalkulasi log P semua senyawa dikatakan memenuhi syarat.

Parameter sterik yang digunakan pada penelitian ini adalah nilai *heat of formation* (HF), *surface area approximation* (SAA), *surface area grid* (SAG), refraktivitas, dan volume. *Heat of formation* (HF) atau disebut sebagai panas pembentukan, didefinisikan sebagai perubahan sejumlah panas ketika 1 mol suatu senyawa terbentuk dari unsur-unsurnya pada keadaan standar 298°K (25°C) dan 100 kPa (Kilo, 2018). Nilai panas pembentukan standar seringkali negatif karena pembentukan senyawa kimia melibatkan pelepasan energi (Bagheri *et al.*, 2013). Dari 15 senyawa analog O-metil kuersetin diketahui nilai panas pembentukan terbesar adalah senyawa QC17 (-128,3908 kkal/mol) dan terendah adalah senyawa QC2 (-219,6104 kkal/mol), sehingga dapat dikatakan, senyawa QC2 membutuhkan energi paling sedikit untuk terbentuk pada keadaan standar 25°C dan 100 kPa. Nilai panas pembentukan tersaji pada Tabel 4.

Surface area (solvent-accessible surface area) dapat didefinisikan sebagai tempat pusat molekul pelarut yang berguling di atas permukaan van der Waals. *Solvent-accessible surface area* dari suatu molekul memberikan ukuran area kontak antara molekul dan pelarut (Mitternacht, 2016). Luas permukaan atom dalam molekul adalah jumlah luas permukaan atom yang tidak terkandung dalam atom lain dari molekul tersebut. Luas permukaan atom yang berbentuk bola dengan jari-jari dianggap sama dengan jari-jari van der Waals, sehingga diperoleh luas

permukaan van der Waals untuk setiap atom (Labute, 2004). Nilai *surface area grid* (SAG) lebih besar dibandingkan dengan nilai *surface area approximation* (SAA). Senyawa dengan nilai SAA dan SAG terbesar adalah senyawa QC17, masing-masing $551,938 \text{ \AA}^2$ dan $619,903 \text{ \AA}^2$. Sedangkan nilai SAA terendah adalah senyawa QC4 sebesar $357,329 \text{ \AA}^2$ dan nilai SAG terendah adalah senyawa QC5 sebesar $484,396 \text{ \AA}^2$. SAG yaitu luas permukaan dengan perhitungan *grid* (*accessible* atau van der Waals) jauh lebih lambat dibanding perhitungan perkiraan (SAA), tetapi lebih akurat untuk satu set jari-jari atom tertentu (Oukil *et al.*, 2017). Nilai SAA dan SAG dapat dilihat di Tabel 4.

Refraktivitas molar adalah ukuran volume yang ditempati oleh atom atau sekelompok atom (Patrick, 2013). Rentang nilai refraktivitas molar dari senyawa analog O-metil kuersetin berkisar antara $87,938$ hingga $107,015 \text{ \AA}^3$. Kisaran kualifikasi refraktivitas molar adalah $40\text{-}130 \text{ \AA}^3$ (Ghose, Viswanadhan and Wendoloski, 1999). Dengan demikian, nilai refraktivitas molar senyawa analog O-metil kuersetin dapat diasumsikan memenuhi kualifikasi *drug-likeness*. Nilai refraktivitas molar dapat dilihat pada Tabel 4.

Molar volume adalah volume yang ditempati oleh 1 mol senyawa pada suhu dan tekanan tertentu (Moldoveanu and David, 2017). Perbedaan nilai molar volume dapat dipengaruhi oleh densitas dan berat molekul. Berdasarkan Tabel 4, dapat diasumsikan senyawa QC17 membutuhkan volume terbesar diantara senyawa analog O-metil kuersetin lainnya untuk 1 mol senyawa, dengan nilai molar volume sebesar $1055,29 \text{ \AA}^3$. Senyawa QC5 membutuhkan volume terendah diantara senyawa lainnya dengan nilai molar volume sebesar $810,823 \text{ \AA}^3$.

Parameter elektronik dalam penelitian ini diantaranya energi total, energi elektronik, energi ikatan, energi hidrasi, momen dipol, polarisabilitas yang tersaji pada Tabel 5, serta E_{HOMO} , dan E_{LUMO} yang tersaji pada Tabel 6. Interaksi obat melibatkan berbagai sifat elektronik untuk membangun ikatan dengan situs target, karena reseptor biologis dapat tersusun dari asam amino yang mengandung gugus fungsional bermuatan dan polar.

Tabel 5. Rekapitulasi nilai deskriptor elektronik

Kode	Energi Total (kkal/mol)	Energi Elektronik (kkal/mol)	Energi Ikatan (kkal/mol)	Energi Hidrasi (kkal/mol)	Momen Dipol (D)	Polarisabilitas (Å ³)
QC2	-95.362,5164	-638.124,9797	-3.995,9874	-27,735	2,2016	30,376
QC3	-95.359,9712	-635.347,6813	-3.993,4423	-26,679	1,4872	30,376
QC4	-95.312,1219	-640.890,6662	-3.945,5929	-30,004	3,6956	30,376
QC5	-95.351,0329	-640.343,9658	-3.984,5040	-27,827	1,7248	30,376
QC6	-95.360,8907	-637.054,3303	-3.994,3617	-27,249	1,7618	30,376
QC7	-98.788,5637	-687.812,3387	-4.254,0068	-23,207	1,8568	32,211
QC8	-98.748,1193	-687.340,6421	-4.213,5624	-24,889	4,0299	32,211
QC9	-98.795,3017	-685.737,0521	-4.260,7448	-22,387	2,0807	32,211
QC10	-98.737,6843	-689.943,7766	-4.203,1274	-25,542	3,8894	32,211
QC11	-98.786,9008	-687.538,5648	-4.252,3439	-22,828	2,6890	32,211
QC12	-98.793,9160	-682.200,6226	-4.259,3591	-20,662	2,2266	32,211
QC13	-102.181,7031	-733.258,0485	-4.479,1183	-18,823	3,4176	34,046
QC14	-102.220,8742	-737.197,8804	-4.518,2893	-17,189	1,2120	34,046
QC15	-102.232,2207	-732.741,2121	-4.529,6359	-17,356	1,4628	34,046
QC17	-109.043,7845	-843.386,1381	-5.005,1438	-10,030	3,2063	37,716

Keterangan: **QC2** (*Isorhamnetin*); **QC3** (*Tamarixetin*); **QC4** (*3-O-Methylquercetin*); **QC5** (*Azaleatin*); **QC6** (*Rhamnetin*); **QC7** (*5,3'-O-Dimethylquercetin*); **QC8** (*3,7-O-Dimethylquercetin*); **QC9** (*Dillenetin*); **QC10** (*3,5-O-Dimethylquercetin*); **QC11** (*5,7-O-Dimethylquercetin*); **QC12** (*Ombuin*); **QC13** (*Ayanin*); **QC14** (*5,3',4'-Tri-O-Methylquercetin*); **QC15** (*Quercetin 7,3',4'-Trimethyl Ether*); dan **QC17** (*Quercetin 3,5,7,3',4'-Pentamethyl Ether*).

Energi total yang dihasilkan oleh perangkat lunak HyperChem adalah akumulasi nilai energi ikatan (*binding energy*) dan energi atom terisolasi (*isolated atom energy*). *Isolated atom* biasanya menunjukkan kecenderungan yang lebih kuat terhadap *sintering* untuk mengurangi energi permukaan. Dari sudut pandang termodinamika, *sintering* berhubungan dengan panas adsorpsi atom/partikel pada permukaan tertentu (Liu and Corma, 2020). Energi total dari 15 senyawa analog O-metil kuersetin berkisar antara -109.043,7845 kkal/mol hingga -95.312,1219 kkal/mol yang dapat dilihat pada Tabel 5.

Jika energi elektronik atom positif, elektron dapat bergerak sangat jauh dari inti. Energi potensial akan menjadi nol, dan energi kinetik akan sama dengan energi

elektronik persis sama dengan nol, elektron dapat bergerak jauh tak terhingga dari inti, tetapi akan kehilangan semua energi kinetiknya. Jika energi elektronik negatif, elektron dapat menjauh dari inti sampai energi kinetik menjadi nol (Haaland, 2008). Nilai terendah energi elektronik adalah senyawa QC17 (-843.386,1381 kkal/mol) dan nilai tertinggi energi elektronik adalah senyawa QC3 (-635.347,6813 kkal/mol), sehingga dapat diasumsikan elektron pada senyawa QC17 lebih mudah bergerak menjauh dari inti dibandingkan elektron pada senyawa lainnya. Nilai energi elektronik tersaji pada Tabel 5.

Dalam fisika dan kimia, energi ikatan adalah jumlah energi terkecil yang diperlukan untuk menghilangkan partikel dari sistem partikel atau membongkar sistem partikel. Energi ikatan adalah jumlah energi untuk memecah atom menjadi komponen-komponennya (Rohlf, 1994). Energi ikatan adalah nilai negatif dari energi interaksi kompleks yang dihitung sebagai perbedaan antara energi total kompleks dan jumlah energi basis dan senyawa (Madhan *et al.*, 2001; Tantishaiyakul, 2004). Energi ikatan berkaitan dengan energi total, dan hasil kalkulasi menunjukkan senyawa yang memiliki energi total tertinggi dan terendah sama dengan senyawa yang memiliki nilai energi ikatan tertinggi dan terendah, masing-masing adalah senyawa QC4 dengan -3.945,5929 kkal/mol dan senyawa QC17 dengan -5005,1438 kkal/mol. Nilai energi ikatan dapat dilihat pada Tabel 5.

Perangkat lunak HyperChem menggunakan metode yang diparameterisasi berdasarkan perhitungan *surface area approximation* untuk penetapan energi hidrasi. Energi bebas hidrasi terdiri dari kontribusi aditif dari berbagai gugus fungsi. Hidrasi masing-masing kelompok diasumsikan sebanding dengan luas permukaan yang dapat diakses (*accessible*) (Ooi *et al.*, 1987). Energi hidrasi yang lebih rendah dianggap sebagai kapasitas yang lebih besar untuk larut dalam air (Kumer, Sarker and Paul, 2019). Semakin tinggi nilai energi hidrasi semakin baik kemampuannya berikatan dengan protein plasma, hal ini berkaitan dengan sifat senyawa yang semakin hidrofobik (Rakhman *et al.*, 2019). Berdasarkan nilai energi hidrasi senyawa yang tersaji pada Tabel 5, senyawa dengan nilai energi hidrasi tertinggi dan terendah adalah QC17 (-10,030 kkal/mol), dan QC4 (-30,004 kkal/mol). Energi

hidrasi berkaitan dengan interaksinya dengan molekul air. Senyawa analog O-metil kuersetin dengan substituen OH lebih banyak, lebih mudah berinteraksi dengan molekul air, dibandingkan dengan substituen metil.

Momen dipol adalah hasil dari distribusi elektron yang tidak merata, yang terjadi karena perbedaan keelektronegatifan antara atom yang terikat secara kimia (karena elektron cenderung bergerak ke arah atom yang lebih elektronegatif). Momen dipol dapat muncul dalam ikatan ionik maupun ikatan kovalen. Semakin besar perbedaan keelektronegatifan antar atom yang berikatan, maka nilai momen dipol akan semakin besar. Besarnya momen dipol adalah deskripsi tingkat polaritas molekul, dengan demikian dalam interaksi antarmolekul momen dipol merupakan kualitas penting, termasuk kaitannya dengan pembentukan ikatan hidrogen, interaksi dipol-dipol, dan interaksi ion-dipol lainnya (Saputra *et al.*, 2013). Semakin besar nilai momen dipol akan semakin bersifat elektronegatif atau polar (Male, Sutapa, dan Yulian, 2018). Berdasarkan nilai momen dipol yang tersaji pada Tabel 5, nilai momen dipol terbesar yaitu senyawa QC8 sebesar 4,0299 Debye, dan nilai momen dipol terkecil adalah senyawa QC14 sebesar 1,2120 Debye.

Polarisabilitas suatu partikel didefinisikan sebagai momen dipol yang diinduksi oleh medan listrik dengan intensitas satuan (Le Fevre, 1965). Kalkulasi polarisabilitas dengan program HyperChem menggunakan metode berbasis atom (*atom-based*). Polarisabilitas berkaitan dengan massa molekul relatif di mana semakin besar massa molekul relatif maka akan semakin banyak jumlah elektron dan semakin mudah mengalami polarisasi. Senyawa QC17 adalah senyawa yang paling mudah mengalami polarisasi. Nilai polarisabilitas tersaji pada Tabel 5.

Energi orbital molekul memberikan informasi tentang reaktivitas atau stabilitas daerah tertentu dari molekul. Dalam penelitian ini, terdapat dua energi orbital molekul, yaitu *highest occupied molecular orbital energy* (E_{HOMO}) mengacu pada kemampuan untuk mendonorkan elektron ke akseptor dan *lowest unoccupied molecular orbital energy* (E_{LUMO}) mengacu pada kemampuan untuk menerima elektron molekul. Nilai E_{HOMO} yang tinggi memiliki kecenderungan untuk mendonorkan elektron ke akseptor dengan energi rendah orbital molekul kosong.

E_{LUMO} adalah nilai terendah kemampuan memenuhi elektron yang lebih tinggi (Radhi *et al.*, 2020). Kemampuan gugus OCH_3 sebagai penarik elektron lebih besar dibanding gugus OH . Gugus penarik elektron menghilangkan elektron, sehingga nilai E_{HOMO} dan E_{LUMO} menurun. Nilai GAP tersaji pada Tabel 6.

Tabel 6. Rekapitulasi nilai E_{HOMO} , E_{LUMO} , GAP (selisih E_{LUMO} dan E_{HOMO})

No	Kode Senyawa	E_{HOMO} (eV)	E_{LUMO} (eV)	GAP (eV)
1	QC2	-8,9417	-0,9713	7,9705
2	QC3	-9,0379	-0,9910	8,0469
3	QC4	-9,1968	-1,1141	8,0827
4	QC5	-8,6723	-1,0051	7,6672
5	QC6	-8,7235	-1,0721	7,6514
6	QC7	-8,8920	-0,8845	8,0075
7	QC8	-9,1799	-1,0783	8,1016
8	QC9	-8,9104	-0,9853	7,9251
9	QC10	-9,1106	-0,9933	8,1173
10	QC11	-8,6577	-0,9617	7,6960
11	QC12	-8,6579	-1,0517	7,6062
12	QC13	-9,2124	-1,0995	8,1129
13	QC14	-8,8310	-1,0443	7,7868
14	QC15	-9,0300	-0,9503	8,0798
15	QC17	-9,1191	-0,9751	8,1440

Keterangan: **QC2** (*Isorhamnetin*); **QC3** (*Tamarixetin*); **QC4** (*3-O-methylquercetin*); **QC5** (*Azaleatin*); **QC6** (*Rhamnetin*); **QC7** (*5,3'-O-dimethylquercetin*); **QC8** (*3,7-O-dimethylquercetin*); **QC9** (*Dillenetin*); **QC10** (*3,5-O-dimethylquercetin*); **QC11** (*5,7-O-dimethylquercetin*); **QC12** (*Ombuin*); **QC13** (*Ayanin*); **QC14** (*5,3',4'-Tri-O-methylquercetin*); **QC15** (*Quercetin 7,3',4'-trimethyl ether*); dan **QC17** (*Quercetin 3,5,7,3',4'-pentamethyl ether*).

Selisih antara E_{LUMO} dan E_{HOMO} (GAP) merupakan indeks stabilitas dan reaktivitas molekul (Tabel 6). Sebuah molekul dengan nilai GAP yang tinggi memiliki reaktivitas kimia yang rendah dan stabilitas yang tinggi (Miar *et al.*, 2021). Nilai GAP mencerminkan kemudahan dalam proses terjadinya eksitasi elektron sehingga kepekaannya terhadap cahaya cenderung lebih kuat pada molekul dengan nilai GAP yang rendah (Saputra, Gusti, dan Sanjaya, 2014). Sehingga, senyawa QC17 dengan nilai GAP tertinggi memiliki reaktivitas yang paling rendah, dan

stabilitas paling baik. Senyawa QC2, QC6, dan QC5 adalah 3 senyawa terbaik berdasarkan nilai deskriptor log P yang sama (-3,981), dengan parameter lain seperti nilai panas pembentukan, SAA, SAG, volume molekul, energi total, energi elektronik, energi ikatan, dan GAP terendah, energi hidrasi dan momen dipol tertinggi.

4.1.4. Penentuan Model HKSA

Penentuan model HKSA dilakukan dengan analisis statistik menggunakan program SPSS dengan metode *multiple linear regression* (MLR) atau regresi linier berganda. MLR mencakup proses statistik yang mencoba menemukan hubungan antara deskriptor sebagai variabel bebas dan aktivitas sebagai variabel terikat (Keyvanpour and Shirzad, 2021). Metode MLR digunakan untuk membangun persamaan HKSA karena variabel bebas yang berupa deskriptor berjumlah lebih dari satu. Dalam penelitian ini seluruh kumpulan data yang berjumlah 15 senyawa digunakan sebagai *training set*. Dilakukan analisis MLR dengan program SPSS, di mana logaritma nilai aktivitas penghambatan proliferasi (LogIC_{50}) sebagai variabel terikat dan nilai 14 deskriptor sebagai variabel bebas, dengan menggunakan opsi '*Analyze*→*Regression*→*Linear*' dan metode *backward*. Metode *backward* (bertahap mundur) adalah salah satu metode untuk pembentukan model regresi. Metode *backward* memindahkan semua variabel ke dalam model persamaan, kemudian variabel dihapus satu per satu. Metode ini berfungsi memilah deskriptor yang signifikan dan tidak.

Hasil analisis regresi linier berganda pada Tabel 7 menunjukkan tiga model. Model pertama dengan 10 deskriptor menghasilkan nilai koefisien korelasi terbaik yaitu 0,973. Namun, metode *backward* mengurangi satu deskriptor untuk model kedua, karena terdapat dua deskriptor dengan nilai signifikansi $> 0,05$, yaitu deskriptor energi ikatan dan energi hidrasi, yaitu 0,484 dan 0,532. Pada model kedua deskriptor energi ikatan dihapus sehingga didapatkan 9 deskriptor dengan nilai koefisien korelasi 0,970, dan deskriptor energi hidrasi akan dihapus untuk model ketiga karena nilai signifikansinya adalah 0,290. Pada model ketiga dihapus

deskriptor energi hidrasi, dan didapatkan 8 deskriptor yang memenuhi syarat signifikansi. Sehingga 8 deskriptor dari model ketiga dapat digunakan untuk dikombinasikan. Nilai signifikansi deskriptor dapat dilihat pada Lampiran 4.

Tabel 7. Hasil regresi linier berganda metode *backward*

Model	Deskriptor	n	m	R	R ²	SEE
1	Molar Volume, E _{LUMO} , Momen Dipol, E _{HOMO} , Panas Pembentukan, Energi Ikatan, SAA, SAG, Energi Hidrasi, Log P	15	10	0,973	0,947	0,1245460
2	Molar Volume, E _{LUMO} , Momen Dipol, E _{HOMO} , Panas Pembentukan, Energi Ikatan, SAA, SAG, Log P	15	9	0,970	0,940	0,1177264
3	Molar Volume, E _{LUMO} , Momen Dipol, E _{HOMO} , Panas Pembentukan, SAA, SAG, Log P	15	8	0,961	0,924	0,1216030

Keterangan: n adalah banyaknya data senyawa; m adalah jumlah deskriptor; R adalah koefisien korelasi; R² adalah koefisien determinasi; SEE (*Standard Error of the Estimation*) adalah estimasi keakuratan prediksi; model adalah representasi regresi linier; SAA adalah *surface area (approximation)*; SAG adalah *surface area (grid)*.

Koefisien korelasi (R) adalah bilangan yang menyatakan kekuatan hubungan antar variabel. Nilai koefisien determinasi (R²) adalah bilangan yang menyatakan kontribusi yang diberikan oleh satu/lebih variabel bebas terhadap variabel terikat. Model 3 menunjukkan nilai R dan R² masing-masing 0,961 dan 0,924. Dari 8 deskriptor model 3 dilakukan kombinasi 3, 4, dan 5 deskriptor dianalisis kembali menggunakan metode *enter*. Kombinasi deskriptor bertujuan mempermudah perumusan persamaan HKSA dan pertimbangan modifikasi molekul. Didapatkan 18 model yang tertera pada Lampiran 5 dengan nilai R < 0,9, sehingga perlu dilakukan seleksi data senyawa hingga nilai R menjadi lebih baik.

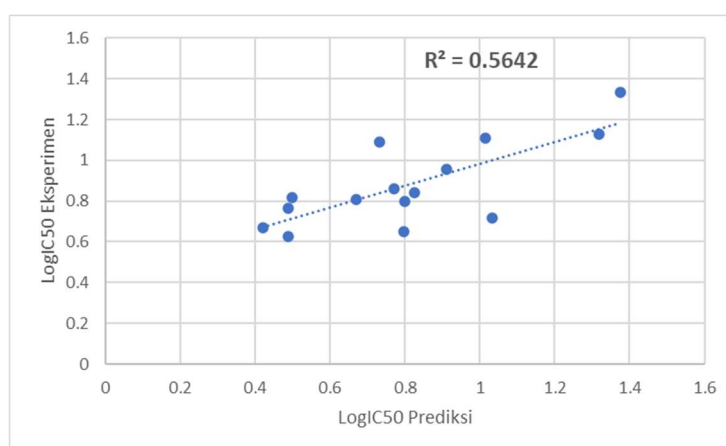
Tabel 8. Hasil regresi linier berganda dari kombinasi beberapa deskriptor

Model	Deskriptor	n	m	R	R ²	SEE
4	Molar Volume, SAG, log P	15	3	0,781	0,611	0,212931
5	Molar Volume, SAA, SAG, log P	15	4	0,781	0,611	0,212931
6	Molar Volume, E _{HOMO} , SAG, log P	15	4	0,783	0,613	0,212153
7	Molar Volume, Panas Pembentukan, SAG, log P	15	4	0,777	0,603	0,214960
8	E _{LUMO} , Panas Pembentukan, Momen Dipol, log P	15	4	0,748	0,559	0,226514
9	Molar Volume, E _{LUMO} , Panas Pembentukan, SAG, log P	15	5	0,777	0,603	0,226571
10	Molar Volume, Panas Pembentukan, SAA, SAG, log P	15	5	0,781	0,611	0,224448
11	Molar Volume, E _{HOMO} , Panas Pembentukan, SAG, log P	15	5	0,791	0,626	0,220015
12	Molar Volume, E _{HOMO} , Momen Dipol, SAG, log P	15	5	0,789	0,623	0,220872
13	Molar Volume, Panas Pembentukan, Momen Dipol, SAG, log P	15	5	0,842	0,709	0,194188
14	Molar Volume, E _{LUMO} , Momen Dipol, SAG, log P	15	5	0,788	0,621	0,221567
15	Molar Volume, E _{LUMO} , SAA, SAG, log P	15	5	0,784	0,614	0,223382
16	Molar Volume, E _{HOMO} , SAA, SAG, log P	15	5	0,798	0,637	0,216643
17	Molar Volume, Momen Dipol, SAA, SAG, log P	15	5	0,814	0,663	0,208812
18	E _{LUMO} , E _{HOMO} , Panas Pembentukan, Momen Dipol, log P	15	5	0,751	0,564	0,237455

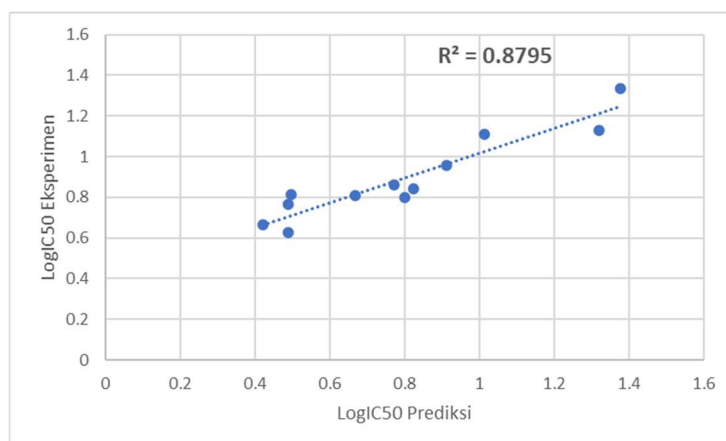
Keterangan: n adalah banyaknya data senyawa; m adalah jumlah deskriptor; R adalah koefisien korelasi; R² adalah koefisien determinasi; SEE (*Standard Error of the Estimation*) adalah estimasi keakuratan prediksi; model adalah representasi regresi linier; SAA adalah *surface area (approximation)*; SAG adalah *surface area (grid)*.

Seleksi data senyawa dilakukan pada persamaan dengan nilai $R > 0,7$. Dari 18 model, 14 diantaranya memiliki nilai $R > 0,7$ yang tertera pada Tabel 8. Seleksi data dilakukan dengan membuang 1 - 3 data senyawa, kemudian diplotkan nilai LogIC₅₀ eksperimen dengan nilai LogIC₅₀ prediksi (menggunakan model persamaan

HKSA) dalam grafik regresi linier dengan Microsoft Excel yang bertujuan memprediksi nilai R^2 hingga didapatkan nilai R^2 yang lebih baik. Seperti pada model 18, didapatkan nilai R^2 sebesar 0,5642 dengan 15 data senyawa (Gambar 6a), menjadi 0,8795 dengan 12 data senyawa (Gambar 6b). Setelah dilakukan seleksi didapatkan nilai R^2 yang lebih baik atau mendekati 0,9 kemudian dianalisis kembali dengan SPSS. Hasil output SPSS model persamaan 18 tertera pada Lampiran 6. Dan dilakukan validasi silang LOO yang terlampir pada Lampiran 7.



(a)



(b)

Gambar 6. Nilai R^2 berdasarkan grafik regresi linier, di mana: (a) sebelum penghapusan data, dan (b) setelah dihapus 3 data.

Dari beberapa persamaan model HKSA, model 18 memiliki nilai R dan R² terbaik, yaitu 0,966 dan 0,933. Kelima variabel bebas pada model 18, diantaranya log P, momen dipol, panas pembentukan, E_{LUMO}, dan E_{HOMO} dianggap memiliki kontribusi terhadap variabel terikat sebesar 93,3%. Selain R dan R², nilai SEE (*standard error of the estimation*) menunjukkan simpangan yang diperbolehkan dalam persamaan. Dalam model prediksi nilai SEE diharapkan kecil untuk menunjukkan akurasi dan lebih sedikit variasi data. Model 18 memiliki nilai SEE yang kecil, sebesar 0,110881. Validasi bertujuan untuk menentukan nilai persamaan HKSA yang baik dan terbukti keterberulangannya yang dilakukan dengan validasi silang *leave-one-out* (LOO). Kualitas validasi silang LOO (Q²) menjadi indikator penting dari analisis regresi linier (Q² > 0,5). Dari 3 model dengan nilai Q² positif pada Tabel 9, model 8 dan 18 memiliki nilai Q² yang memenuhi syarat, yaitu 0,96451 dan 0,752226. Sedangkan nilai PRESS (*predicted residual sum of squares*) terendah adalah model 18, yaitu 0,2742. Menurut Paramita et al. (2020), semakin kecil nilai PRESS maka semakin kecil kemungkinan kesalahannya. Validasi model 18 terlampir pada Lampiran 8. Simulasi validasi LOO terlampir pada Lampiran 9. Berdasarkan parameter validasi pada Tabel 9, dapat disimpulkan bahwa model 18 adalah model terbaik dengan persamaan sebagai berikut:

$$\text{LogIC}_{50} = 23,059 + (7,397 \times \log P) + (0,273 \times \text{momen dipol}) - (0,005 \times \text{panas pembentukan}) - (0,733 \times E_{\text{LUMO}}) - (0,501 \times E_{\text{HOMO}}) \quad \{4\}$$

n = 12; R = 0,966; R² = 0,933; SEE = 0,110881; F_{hit}/F_{tabel} = 3,829853; Q² = 0,752226; dan PRESS = 0,274208.

Dengan asumsi ketiadaan variabel lainnya, nilai koefisien konstanta bernilai positif cenderung menaikkan nilai LogIC₅₀ prediksi. Dalam model 18 diketahui nilai koefisien regresi log P dan momen dipol bernilai positif yang menandakan jika nilai log P atau momen dipol mengalami kenaikan dan variabel lain ditiadakan, maka nilai LogIC₅₀ prediksi cenderung mengalami kenaikan. Sebaliknya, nilai koefisien regresi panas pembentukan, E_{LUMO} dan E_{HOMO} bernilai negatif, yang diasumsikan jika nilai variabel mengalami kenaikan dan variabel lainnya ditiadakan maka nilai LogIC₅₀ prediksi cenderung mengalami penurunan.

Tabel 9. Hasil validasi model persamaan hasil regresi linier berganda dari kombinasi beberapa deskriptor

Model	Persamaan	n	m	R	R ²	SEE	F _{hit} /F _{tabel}	Q ²	PRESS
7	Y = -101,996 + (-22,694 × log P) + (0,000093 × Panas Pembentukan) + (-0,011 × SAG) + (0,022 × Molar Volume)	12	4	0,927	0,860	0,148990	2,6083	0,0465	1,0579
8	Y = -19,786 + (5,036 × log P) + (0,189 × Momen Dipol) + (0,001 × Panas Pembentukan) + (-0,570 × E _{LUMO})	12	4	0,946	0,895	0,128636	3,6335	0,9645	0,3102
18	Y = 23,059 + (7,397 × log P) + (0,273 × Momen Dipol) + (-0,005 × Panas Pembentukan) + (-0,733 × E _{LUMO}) + (-0,501 × E _{HOMO})	12	5	0,966	0,933	0,110881	3,8298	0,7522	0,2742

Keterangan: n adalah jumlah data senyawa; m adalah jumlah deskriptor; R adalah koefisien korelasi; R² adalah koefisien determinasi; Q² adalah koefisien validasi silang *leave-one-out*; PRESS (*predicted residual error sum of squares*) adalah bentuk validasi silang dalam analisis regresi untuk memberikan ringkasan ukuran kecocokan model dengan sampel pengamatan yang tidak digunakan untuk memperkirakan model; SAG adalah *surface area (grid)*.

4.2. Hasil Desain Senyawa Baru

Aktivitas antikanker flavonol pertama kali dikaitkan dengan kemampuannya untuk menyumbangkan elektron dari gugus hidroksil fenoliknya. Flavonoid mengerahkan efek kemopreventif dengan bertindak tidak hanya sebagai pendonor hidrogen tetapi juga pada jalur pensinyalan protein kinase. Flavonoid mengubah keadaan fosforilasi kinase untuk mengatur beberapa jalur pensinyalan sel dalam proses karsinogenesis. Kuersetin tidak hanya bertindak sebagai antioksidan pendonor hidrogen tetapi juga dapat melakukan tindakan modulasi sel melalui protein kinase dan jalur pensinyalan protein kinase (Boly *et al.*, 2011).

Kuersetin dapat digunakan dalam berbagai gangguan karena kemampuan antioksidannya. Aktivitas pengikatan *Reactive Oxygen Species* (ROS) dikaitkan dengan perubahan ion OH^- , yang memiliki hubungan dengan pertukaran elektron (Khan *et al.*, 2016). ROS terlibat dalam banyak aktivitas seluler penting termasuk transkripsi gen, transduksi pensinyalan, dan respons imun (Liu *et al.*, 2018). Tingkat ROS yang tinggi menginduksi stres oksidatif yang dapat menyebabkan aktivasi jalur transduksi sinyal berlebih dan meningkatkan proliferasi sel. Dengan cara ini, ROS mempromosikan tumorigenesis. Kuersetin mengatur jalur internal dan eksternal dalam pensinyalan protein kinase C (PKC) yang dimediasi ROS. PKC menghambat proliferasi dan kelangsungan hidup sel serta menginduksi apoptosis pada sel kanker. Kuersetin mencegah perkembangan kanker dengan meningkatkan regulasi p53, yaitu penekan tumor inaktif yang paling umum (Xu *et al.*, 2019).

Diperkirakan bahwa radikal kuersetin semikuinon, yang muncul setelah menghilangkan atom hidrogen dari gugus 4'-OH, adalah radikal paling stabil dan mempromosikan radikal penonaktifan melalui transfer proton dan/atau elektron (Veiko, Lapshina and Zavodnik, 2021). Gugus katekol flavonoid adalah salah satu pertimbangan struktural utama yang mendasari aktivitas antioksidan karena potensi reduksi yang menguntungkan. Mekanisme aksi yang dominan mungkin melibatkan donor elektron tunggal ke kation radikal, menghasilkan pembentukan

semikuinon yang dapat mendonorkan elektron secara lebih dominan untuk membentuk kuinon. Kehadiran fenol yang terhalang pada cincin B melalui gugus metoksil sangat meningkatkan efek donor elektron pada posisi 4- atau posisi 4'- (Pannala *et al.*, 2001).

Hubungan struktur dan aktivitas senyawa analog O-metil kuersetin menunjukkan gugus O-metil pada posisi 4' dan/atau posisi 7 berperan penting sebagai penghambat aktivitas proliferasi (Shi *et al.*, 2014). Senyawa tamarixetin (QC3) dan rhamnetin (QC6) memiliki gugus O-metil masing-masing pada posisi 4' dan 7, dan memiliki nilai IC_{50} eksperimen rendah (masing-masing 2,63 dan 3,08 μM) serta nilai IC_{50} prediksi terendah (moderat) yaitu sebesar 2,28 dan 2,18 μM terhadap sel kanker paru-paru A549. Senyawa ombuin (QC12) juga memiliki nilai IC_{50} eksperimen yang rendah (3,07 μM), namun nilai IC_{50} prediksinya lebih besar (4,02 μM). Sehingga senyawa QC3 dan QC6 dipilih sebagai senyawa acuan untuk dimodifikasi strukturnya. Nilai IC_{50} prediksi senyawa O-metil kuersetin terlampir di Lampiran 10.

Bioavailabilitas kuersetin terkait dengan bioaksesibilitasnya. Kelarutan kuersetin dalam air rendah sehingga pada suhu aksesibilitas dan bioavailabilitasnya terbatas (Kasikci and Bagdatlioglu, 2016). Kemanjuran kuersetin terbatas karena hidrofobisitasnya, penyerapan gastrointestinal yang buruk dan ketidakstabilan dalam media fisiologis, metabolisme xenobiotik yang luas di hati dan usus melalui glukoronidasi atau sulfasi, yang secara kolektif berkontribusi terhadap bioavailabilitas oral kuersetin yang rendah (Vinayak and Maurya, 2019). Flavonoid yang termetilasi mungkin memiliki penyerapan oral yang lebih tinggi daripada analognya yang tidak termetilasi (Wen and Walle, 2006).

Gugus hidroksil senyawa acuan akan dimodifikasi dengan gugus O-alkilamino. Modifikasi struktur senyawa baru tersubstitusi dengan O-alkilamino dan menghasilkan senyawa dengan potensi yang lebih baik terhadap aktivitas kanker pada sel kanker payudara dan pankreas (Chen *et al.*, 2013)., Struktur senyawa apigenin yang dimodifikasi dengan O-alkilamino pada posisi 4' juga

menghasilkan peningkatan efek penghambatan dibandingkan apigenin (Chen *et al.*, 2014). Apigenin adalah senyawa flavonoid yang memiliki struktur serupa dengan kuersetin, tetapi apigenin tidak memiliki gugus OH pada posisi 3 dan 3'.

Tabel 10. Nilai deskriptor senyawa baru dan LogIC₅₀ prediksi

No	Kode Senyawa	log P	Momen Dipol (Debye)	Panas Pembentukan (kkal/mol)	ELUMO (eV)	EHOMO (eV)	LogIC ₅₀ Prediksi
1	QC3_1	-4,332	2,7429	-208,6541	-0,9664	-8,8462	-2,0524
2	QC3_2	-4,682	0,7581	-192,3079	-0,9327	-8,9745	-5,2253
3	QC3_3	-4,682	1,2873	-190,4763	-0,9811	-8,7313	-5,1764
4	QC3_4	-4,682	2,9979	-200,0631	-0,9654	-8,7402	-4,6685
5	QC3_5	-4,332	1,9352	-198,2233	-1,0436	-8,8459	-2,2686
6	QC3_6	-4,332	3,2759	-210,1054	-0,9949	-9,028	-1,7877
7	QC3_7	-4,332	1,7356	-209,7923	-0,9518	-9,05	-2,2303
8	QC3_8	-3,964	2,7951	-203,4325	-1,0653	-8,6719	0,6536
9	QC3_9	-3,964	2,2510	-206,2265	-1,0316	-9,0108	0,6430
10	QC6_1	-4,682	4,1746	-200,159	-0,9498	-8,7558	-4,3505
11	QC6_2	-4,682	2,7179	-193,709	-0,8202	-8,7664	-4,8701
12	QC6_3	-4,682	2,4069	-191,9598	-0,8347	-9,0786	-4,7966
13	QC6_4	-4,332	2,4081	-208,2336	-1,1301	-8,8108	-2,0437
14	QC6_5	-4,332	2,8311	-210,7275	-1,0331	-8,6851	-2,0498
15	QC6_6	-4,332	3,2732	-201,4708	-0,8437	-8,8123	-2,0504
16	QC6_7	-3,964	1,0942	-207,0951	-1,0809	-8,7459	0,2455
17	QC6_8	-3,964	1,0975	-204,2590	-1,1161	-8,8248	0,2975
18	QC6_9	-3,947	1,4345	-196,3627	-1,1290	-8,7532	0,4494

Nilai LogIC₅₀ prediksi didapatkan dengan memasukkan nilai deskriptor pada model persamaan HKSA yang terpilih, yaitu model 18 (persamaan {4}). Berdasarkan rekapitulasi deskriptor dan nilai LogIC₅₀ prediksi senyawa baru pada Tabel 10, terlihat sebagian besar memiliki nilai LogIC₅₀ prediksi negatif, lima diantaranya memiliki nilai LogIC₅₀ prediksi positif. Senyawa baru turunan tamarixetin (QC3) menunjukkan dua senyawa memiliki nilai positif, yaitu QC3_8 dan QC3_9. Sedangkan desain senyawa baru turunan rhamnetin (QC6)

menunjukkan tiga senyawa memiliki nilai positif, yaitu QC6_7, QC6_8, dan QC6_9. Hal ini didasarkan pada nilai beberapa deskriptor yang berkaitan dengan persamaan HKSA yang digunakan.

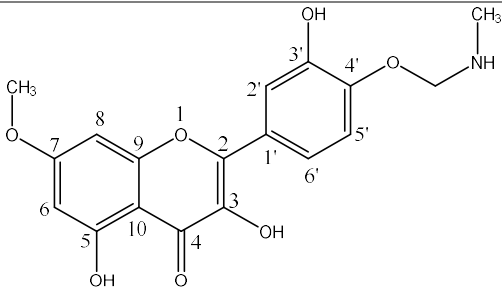
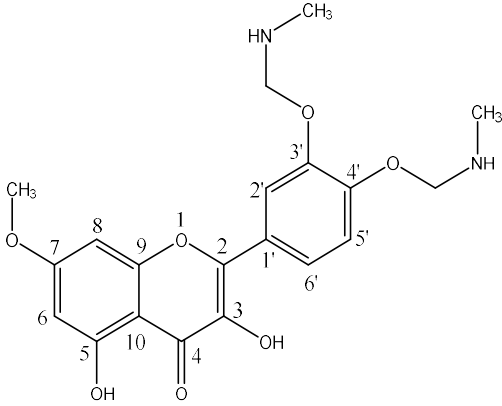
Seperti, nilai log P dari lima senyawa yang memiliki nilai LogIC₅₀ prediksi positif menunjukkan nilai yang lebih besar dibanding senyawa lainnya. Berdasarkan model persamaan, semakin besar nilai log P maka semakin besar pula nilai LogIC₅₀ prediksi. Meski nilai deskriptor lainnya, seperti momen dipol, panas pembentukan, E_{LUMO}, dan E_{HOMO} cenderung bervariasi, keempatnya tetap berpengaruh. Semakin besar nilai momen dipol, maka nilai LogIC₅₀ prediksi akan semakin besar. Semakin kecil nilai panas pembentukan, E_{LUMO}, dan E_{HOMO}, maka nilai LogIC₅₀ prediksi semakin besar.

Berdasarkan koefisien regresi dari model persamaan HKSA, nilai E_{LUMO} dan E_{HOMO} senyawa baru turunan QC6 lebih rendah dibandingkan senyawa acuan QC6, dan berdasarkan statistik penurunan nilai E_{LUMO} dan E_{HOMO} cenderung menaikkan nilai LogIC₅₀ prediksi. Dari lima nilai deskriptor, empat diantaranya cenderung menaikkan nilai LogIC₅₀ prediksi, terlihat dari nilai prediksi aktivitas dari QC6_7 dan QC6_8 lebih rendah dibandingkan senyawa acuan QC6. Sedangkan pada senyawa turunan QC3, nilai momen dipol lebih besar dibandingkan senyawa acuan QC3 (1,4872 Debye) serta nilai E_{HOMO} yang lebih tinggi dibandingkan senyawa acuan (-9,0379 eV). Kenaikan nilai momen dipol cenderung menaikkan nilai LogIC₅₀ prediksi. Dan kenaikan nilai E_{HOMO} cenderung menurunkan nilai LogIC₅₀ prediksi.

Prediksi nilai aktivitas dari kelima senyawa baru dengan modifikasi gugus O-alkilamino pada Tabel 11 menunjukkan senyawa QC6_7 dan QC6_8 memiliki nilai IC₅₀ prediksi lebih kecil dibandingkan IC₅₀ prediksi tamarixetin (2,28 µM) dan rhamnetin (2,18 µM). Nilai IC₅₀ prediksi senyawa QC6_7 sebesar 1,76 µM, dan QC6_8 sebesar 1,98 µM. Gugus O-alkilamino pada QC6_7 dan QC6_8 berada pada posisi 3' dan 4' cincin B kuersetin.

Tabel 11. Hasil LogIC₅₀ prediksi dan IC₅₀ prediksi senyawa baru

Kode Senyawa	Nama IUPAC / Gambar	LogIC ₅₀ Prediksi	IC ₅₀ Prediksi (μM)
QC3_8	3,5,7-trihydroxy-2-(4-methoxy-3-((methylamino)methoxy)phenyl)-4H-chromen-4-one	0,64295	4,39
QC3_9	3,5-dihydroxy-2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)-7-((methylamino)methoxy)-4H-chromen-4-one	0,65356	4,50
QC6_7	3,5-dihydroxy-2-(4-hydroxy-3-((methylamino)methoxy)phenyl)-7-methoxy-4H-chromen-4-one	0,24547	1,76

Kode Senyawa	Nama IUPAC / Gambar	LogIC ₅₀ Prediksi	IC ₅₀ Prediksi (μM)
QC6_8	3,5-dihydroxy-2-(3-hydroxy-4-((methylamino)methoxy)phenyl)-7-methoxy-4H-chromen-4-one	0,29749	1,98
			
QC6_9	2-(3,4-bis((methylamino)methoxy)phenyl)-3,5-dihydroxy-7-methoxy-4H-chromen-4-one	0,44936	2,81
			

4.3. Penambatan Molekul

4.3.1. Penyiapan Reseptor dan Ligan

Penambatan molekul memerlukan reseptor dan ligan. Reseptor yang akan digunakan adalah domain tirosin kinase EGFR atau EGFR-TK. Reseptor EGFR-TK pada manusia (*Homo sapiens*) dengan PDB ID: 1M17 yang terkompleks dengan ligan erlotinib, diperoleh dari *X-ray Diffraction* beresolusi 2,60 Å, diunduh dari Protein Data Bank. Reseptor dan ligan ditambatkan menggunakan DOCK 6.9 dengan memisahkan reseptor dan ligan aslinya dengan program Chimera. Reseptor dipreparasi menjadi dua *file*, yaitu dengan dan tanpa atom hidrogen. Reseptor tanpa atom hidrogen untuk menentukan *sphere* disekitar permukaan

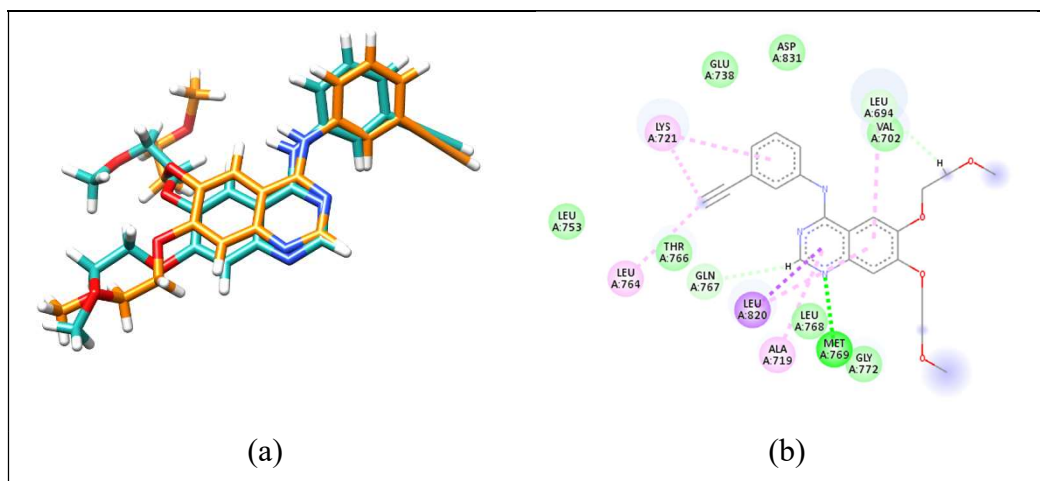
protein. Ligan uji yang dibangun dengan perangkat lunak ChemDraw dioptimasi dengan metode PM3 menggunakan HyperChem sebelum ditambahkan. Ligan dipreparasi dengan menambahkan hidrogen dan muatan medan gaya AMBER ff14SB. *Sphere_selector* menyaring output *sphgen* dalam memilih semua *sphere* dalam radius molekul target (dalam format *mol2*). *Sphgen* menghasilkan set *sphere* yang tumpang tindih untuk menggambarkan bentuk molekul dan permukaan molekul. *Sphere* dihitung di seluruh permukaan, menghasilkan sekitar satu *sphere* per titik permukaan. *Showbox* menentukan lokasi dan ukuran *grid* yang akan dihitung dalam program '*grid*'. *Grid* diperlukan untuk evaluasi skor dan hanya diperlukan sekali untuk setiap reseptor.

4.3.2. Validasi Penambatan Molekul

Validasi penambatan molekul bertujuan melihat kemampuan simulasi untuk memproduksi pose dan struktur ligan alami. Penilaian validasi dilihat berdasarkan nilai RMSD yang menggambarkan penyimpangan jarak pose hasil *redocking* dibandingkan sebelum *docking*. Validasi *docking* dengan DOCK 6.9 dijalankan dengan sistem operasi Ubuntu dengan bantuan terminal untuk menjalankan perintah. Reseptor dan ligan ditempatkan dalam satu folder yang sama. Setelah perintah *grid* dijalankan, dilakukan minimisasi energi. *File flex.in* untuk menjalankan perintah penambatan molekul fleksibel diatur hingga menghasilkan nilai RMSD yang memenuhi syarat.

Pengaturan parameter seperti *pruning_max_orients* (orientasi maksimum yang dihasilkan sebelum pemangkasan) sebesar 900; *pruning_clustering_cutoff* (jumlah maksimum cluster yang dipertahankan dari pemangkasan) sebesar 90; *pruning_conformer_score_cutoff* (skor maksimum yang diperbolehkan untuk konformer) sebesar 10, *max_orientations* (jumlah orientasi maksimum) sebesar 2000; dan *simplex_grow_max_iterations* (jumlah iterasi maksimum per siklus per reseptor) masing-masing sebesar 471. Didapatkan nilai RMSD sebesar 1,0987 Å dan dinyatakan memenuhi syarat (<2 Å). Hasil *redocking* divisualisasikan dengan program *Chimera* (Gambar 7a).

Hasil *redocking* menunjukkan ligan alami, erlonitib berperan sebagai *hydrogen bond acceptor* (HBA) dengan asam amino aktif reseptor EGFR-TK, Met769, melalui atom nitrogen pada struktur heterosiklik. Ikatan yang terbentuk diantaranya ikatan hidrogen konvensional dengan residu Met769 (N...HN), ikatan karbon-hidrogen dengan residu Leu694 dan Gln767, ikatan pi-sigma (π - σ) dengan residu Leu820, ikatan alkil dengan residu Leu764, serta ikatan pi-alkil (π -alkil) dengan residu Leu694, Ala719, Lys721, dan Leu820. Interaksi van der Waals dengan residu asam amino Glu738, Leu753, Leu763, Gly772, dan Asp831 (Gambar 7b). Skor *grid* dari penambatan ulang ligan alami erlotinib adalah -65,0275 kkal/mol.



Gambar 7. Visualisasi hasil *redocking* menggunakan *Chimera*, (a) RMSD 1,0987 Å dan (b) interaksi kimia erlotinib.

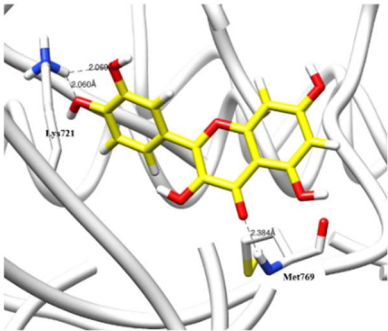
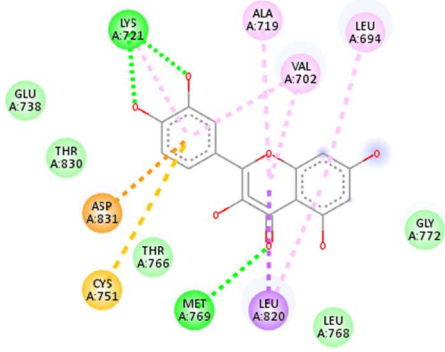
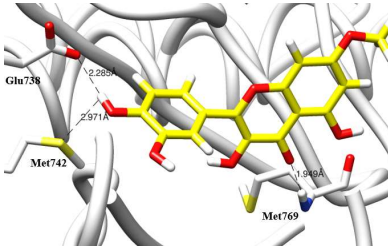
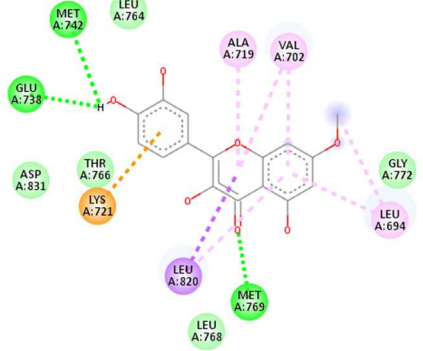
4.3.3. Analisis and Visualisasi Hasil Penambatan Molekul

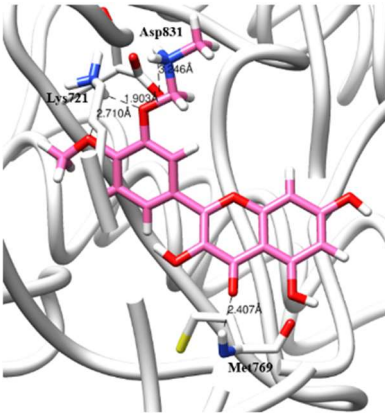
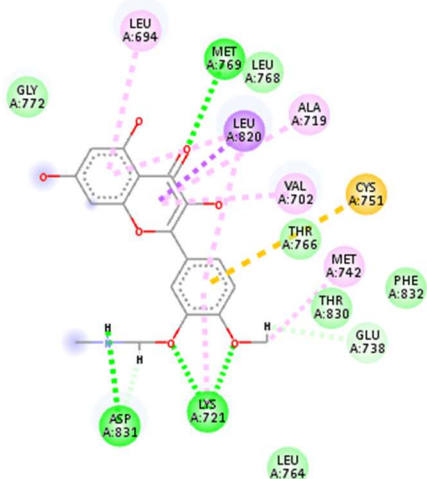
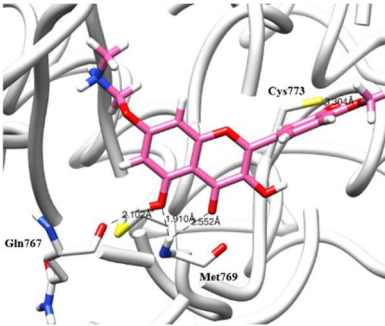
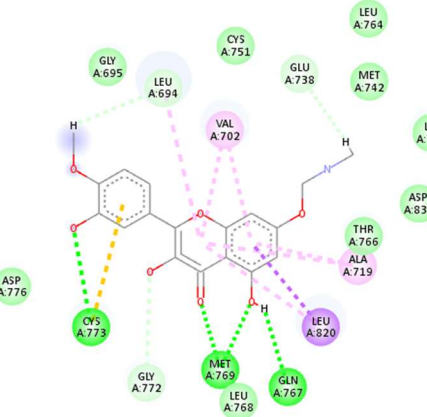
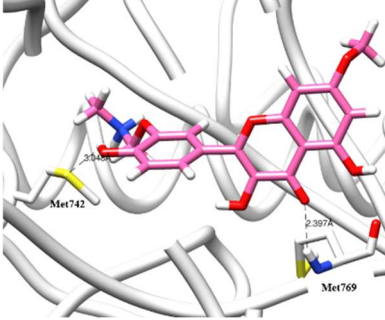
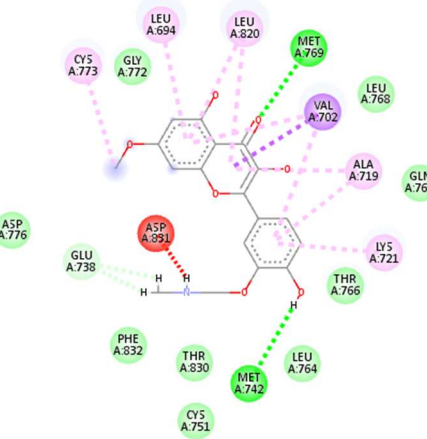
Setelah dilakukan penambatan molekul ligan pembanding dan ligan uji dengan metode yang telah tervalidasi, selanjutnya dilakukan visualisasi dan analisis hasil penambatan. Visualisasi dilakukan dengan program Discovery Studio untuk melihat interaksi molekul dengan residu, dan program Chimera untuk menghitung jarak ikatan hidrogen.

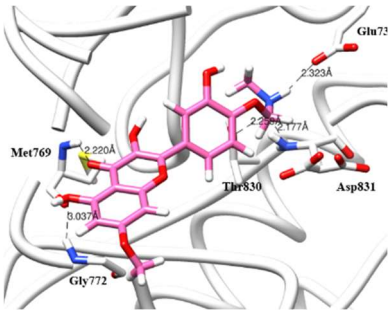
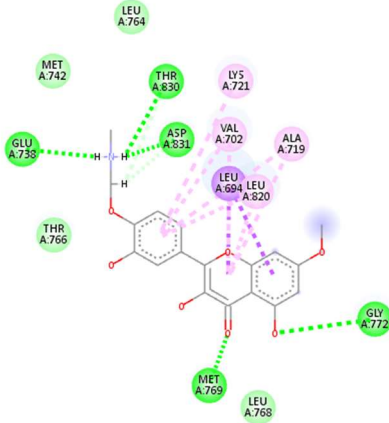
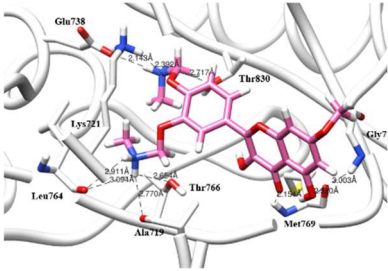
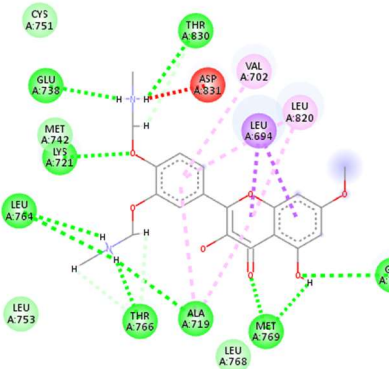
Algoritma pencarian DOCK 6.9 adalah teknik pencarian sistematis, *incremental construction* (disebut juga *anchor-and-grow*) atau *fragment-based* (Allen *et al.*, 2015). Ligan yang diinginkan dibagi menjadi fragmen-fragmen kecil,

diikuti dengan pengikatan fragmen dengan situs reseptor dan membangun hubungan fragmen. *Incremental construction* membagi molekul menjadi bagian inti yang kaku dan bagian yang fleksibel. Fungsi penilaian dapat digunakan untuk menentukan mode pengikatan dan lokasi ligan, memprediksi afinitas pengikatan, dan mengidentifikasi obat *lead* potensial untuk target protein tertentu. Fungsi penilaian berbasis medan gaya (*force field-based scoring function*) klasik menghitung energi ikat dengan mengakumulasi interaksi *van der Waals* dan elektrostatis antara pasangan atom-ligan (Li, Fu and Zhang, 2019). DOCK 6.9 menggunakan beberapa jenis fungsi penilaian. Dalam penelitian ini, fungsi penilaian yang digunakan adalah fungsi penilaian berbasis grid (*grid-based score*) yang merupakan penjumlahan energi interaksi *van der Waals* dan elektrostatis.

Tabel 12. Visualisasi hasil penambatan molekul ligan pembeding, dan desain senyawa baru dengan modifikasi gugus O-alkilamino

Visualisasi 3D	Visualisasi 2D Interaksi	Skor Grid (kkal/mol)
<p>QC1</p> 		-47,2471
<p>QC6</p> 		-55,9166

Visualisasi 3D	Visualisasi 2D Interaksi	Skor Grid (kcal/mol)
<p data-bbox="301 398 384 427">QC3_8</p> 		-68,4645
<p data-bbox="301 949 384 978">QC3_9</p> 		-70,8471
<p data-bbox="301 1453 384 1482">QC6_7</p> 		-77,6986

Visualisasi 3D	Visualisasi 2D Interaksi	Skor Grid (kkal/mol)
<p>QC6_8</p> 		-79,4575
<p>QC6_9</p> 		-96,1534

Ket: **QC1** (*Quercetin*); **QC6** (*Rhamnetin*); **QC3_8** (*3,5,7-trihydroxy-2-(4-methoxy-3-((methylamino)methoxy)phenyl)-4H-chromen-4-one*); **QC3_9** (*3,5-dihydroxy-2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)-7-((methylamino)methoxy)-4H-chromen-4-one*); **QC6_7** (*3,5-dihydroxy-2-(4-hydroxy-3-((methylamino)methoxy)phenyl)-7-methoxy-4H-chromen-4-one*); **QC6_8** (*3,5-dihydroxy-2-(3-hydroxy-4-((methylamino)methoxy)phenyl)-7-methoxy-4H-chromen-4-one*); **QC6_9** (*2-(3,4-bis(methylamino)methoxy)phenyl)-3,5-dihydroxy-7-methoxy-4H-chromen-4-one*).

Berdasarkan penambatan molekul dengan DOCK 6.9 pada Tabel 12, diketahui skor *grid* dari senyawa kuersetin dan rhamnetin adalah -47,2471 kkal/mol dan -55,9166 kkal/mol. Interaksi elektrostatik pada senyawa kuersetin yang terbentuk berdasarkan visualisasi adalah π -*anion* dengan residu asam amino Asp831 dan interaksi van der Waals dengan residu asam amino Glu738, Leu768, Gly772, dan Thr830. Interaksi elektrostatik pada senyawa rhamnetin yang terbentuk adalah π -*cation* dengan residu asam amino Lys721 dan interaksi van der Waals dengan residu asam amino Thr766, Leu768, Gly772, dan Asp831. Perbedaan energi elektrostatik dan van der Waals tersaji pada Tabel 13.

Hasil penambatan molekul senyawa analog O-metil kuersetin berupa skor *grid* pada lampiran 11 berkisar antara -46,4481 hingga -59,5984 kkal/mol. Senyawa QC14 memiliki skor *grid* paling negatif diantara senyawa analog O-metil kuersetin lainnya. Senyawa kuersetin dan 14 analog O-metil kuersetin membentuk ikatan hidrogen konvensional antara gugus karbonil C4 dengan residu asam amino Met769 (O...HN). Hanya senyawa QC10 yang membentuk ikatan hidrogen konvensional pada posisi berbeda yaitu atom O pada posisi C7 (O...HN dan H...OH) dengan residu asam amino Met769.

Beberapa senyawa tidak hanya membentuk ikatan hidrogen dengan Met769. Senyawa QC3_8 membentuk 3 ikatan hidrogen konvensional, 2 ikatan karbon-hidrogen dan interaksi van der Waals dengan 6 residu, serta interaksi hidrofobik yang terbentuk adalah π -*sigma* dengan Leu820; π -*sulfur* dengan Cys751; π -*alkyl* dengan Leu694, Val702, Ala719, Lys721, Leu820; dan interaksi *alkyl* dengan Met742. Senyawa QC3_9 membentuk 3 ikatan hidrogen konvensional, 3 ikatan karbon-hidrogen, dan interaksi van der Waals dengan 9 residu, serta interaksi hidrofobik π -*sigma* dengan Leu820; π -*alkyl* dengan Leu694, Val702, Ala719, Leu820; interaksi π -*sulfur* dengan Cys773. Berbeda dengan senyawa acuan kuersetin dan rhamnetin, senyawa baru yang termodifikasi O-alkilamino tidak menunjukkan interaksi elektrostatik. Jika dilihat dari banyaknya interaksi van der Waals diketahui QC3_9 memiliki lebih banyak interaksi dengan energi van der Waals lebih tinggi dibanding QC3_8 yaitu -49,4905 kkal/mol dan -53,3868 kkal/mol (Tabel 13).

Senyawa QC6_7 membentuk 2 ikatan hidrogen konvensional, 1 ikatan karbon-hidrogen, dan interaksi van der Waals dengan 8 residu, serta interaksi hidrofobik π -*sigma* dengan Val702; π -*alkyl* dengan Leu694, Val702, Ala719, Lys721, Leu820; interaksi *alkyl* dengan Cys773; *unfavourable donor-donor* dengan Asp831. Senyawa QC6_8 membentuk 5 ikatan hidrogen konvensional, 2 ikatan karbon-hidrogen, dan interaksi van der Waals dengan 4 residu, serta interaksi hidrofobik π -*sigma* dengan Leu694; π -*alkyl* dengan Val702, Ala719, Lys721, Leu820; *unfavourable donor-donor* dengan Asp831. Senyawa QC6_9 membentuk

8 ikatan hidrogen konvensional, 2 ikatan karbon-hidrogen, dan interaksi van der Waals dengan 4 residu, serta interaksi hidrofobik π - σ dengan Leu694; π - alkyl dengan Val702, Ala719, Leu820; *unfavourable donor-donor* dengan Asp831. Dilihat dari banyaknya interaksi van der Waals yang tertera pada Tabel 14, diketahui QC6_7 memiliki lebih banyak interaksi dengan energi van der Waals lebih tinggi dibanding QC6_8 dan QC6_9. Sehingga dapat diasumsikan, semakin banyak interaksi van der Waals yang terbentuk semakin tinggi nilai energi van der Waals. Skor *grid* senyawa baru lebih negatif dibandingkan ligan alami, erlotinib, dan senyawa acuan, kuersetin dan ramnetin.

Tabel 13. Komponen skor *grid* berupa energi van der Waals dan elektrostatik

Senyawa	Energi van der Waals (kkal/mol)	Energi Elektrostatik (kkal/mol)	Skor <i>Grid</i> (kkal/mol)
Erlotinib	-63,7555	-1,2720	-65,0275
QC1	-44,9087	-2,3384	-47,2471
QC6	-52,9765	-2,9400	-55,9166
QC3_8	-53,3868	-15,0777	-68,4645
QC3_9	-49,4905	-21,3565	-70,8471
QC6_7	-49,8490	-27,8496	-77,6986
QC6_8	-53,3059	-26,1516	-79,4575
QC6_9	-63,4333	-32,7201	-96,1534

Ket: **QC1** (*Quercetin*); **QC6** (*Rhamnetin*); **QC3_8** (*3,5,7-trihydroxy-2-(4-methoxy-3-((methylamino)methoxy)phenyl)-4H-chromen-4-one*); **QC3_9** (*3,5-dihydroxy-2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)-7-((methylamino)methoxy)-4H-chromen-4-one*); **QC6_7** (*3,5-dihydroxy-2-(4-hydroxy-3-((methylamino)methoxy)phenyl)-7-methoxy-4H-chromen-4-one*); **QC6_8** (*3,5-dihydroxy-2-(3-hydroxy-4-((methylamino)methoxy)phenyl)-7-methoxy-4H-chromen-4-one*); **QC6_9** (*2-(3,4-bis(methylamino)methoxy)phenyl)-3,5-dihydroxy-7-methoxy-4H-chromen-4-one*).

Ikatan hidrogen konvensional terbentuk antara senyawa baru termodifikasi O-alkilamino dengan residu asam amino Met769 pada gugus karbonil cincin C sebagai HBA (O...HN). Berdasarkan jarak ikatan kimia Tabel 14, menunjukkan senyawa QC3_9 memiliki ikatan yang paling kuat dan stabil dengan jarak ikatan terhadap Met769 sebesar 1,910 Å. Semakin kecil jarak ikatan hidrogen yang terbentuk akan membuat ikatan hidrogen semakin kuat dan lebih stabil berikatan dengan protein (Rezki, Andika dan Rahmawati, 2022).

Tabel 14. Rekapitulasi interaksi kimia dan jarak ikatan hidrogen dari ligan pembanding dan desain senyawa baru

No	Kode	Ikatan Hidrogen [Residu / Jarak Ikatan (Å)]	Interaksi van der Waals	Interaksi Hidrofobik
1	QC1	Met769 (2,384); Lys721 (2,060)	Glu738; Leu768; Gly772; Thr830	Val702; Ala719; Leu694; Asp831; Cys751
2	QC6	Met769 (1,949); Met742 (2,971); Glu738 (2,285)	Thr766; Leu768; Gly772; Asp831	Val702; Ala719; Leu694; Lys721; Leu820
3	QC3_8	Met769 (2,407); Asp831 (3,246); Lys721 (1,903)	Leu764; Thr766; Leu768; Gly772; Thr830; Phe832	Val702; Ala719; Leu694; Met742; Leu820; Cys751
4	QC3_9	Met769 (1,910); Cys773 (3,304); Gln767 (2.102)	Gly695; Lys721; Met742; Cys751; Leu764; Thr766; Leu768; Asp776; Asp831	Leu694; Gly772; Gly738; Val702; Ala719; Leu820
5	QC6_7	Met769 (2,397); Met742 (3,048);	Cys751; Leu764; Thr766; Gln767; Leu768; Asp776; Thr830; Phe832	Glu738; Ala719; Leu694; Cys773; Lys721; Leu820; Val702; Asp831
6	QC6_8	Met769 (2,220); Gly772 (3,037); Thr830 (2,259); Asp831 (2,177); Glu738 (2,323)	Met742; Leu764; Thr766; Leu768	Val702; Ala719; Leu820; Lys721; Leu694
7	QC6_9	Met769 (2,154); Glu738 (2,143); Thr766 (2.654); Ala719 (2,770); Lys721 (2,392); Leu764 (2,911); Thr830 (2,717); Gly772 (3,003)	Met742; Cys751; Leu753; Leu768	Val702; Leu820; Leu694; Asp831

Ket: **QC1** (*Quercetin*); **QC6** (*Rhamnetin*); **QC3_8** (*3,5,7-trihydroxy-2-(4-methoxy-3-((methylamino)methoxy)phenyl)-4H-chromen-4-one*); **QC3_9** (*3,5-dihydroxy-2-(3-hydroxy-4-methoxyphenyl)-7-((methylamino)methoxy)-4H-chromen-4-one*); **QC6_7** (*3,5-dihydroxy-2-(4-hydroxy-3-((methylamino)methoxy)phenyl)-7-methoxy-4H-chromen-4-one*); **QC6_8** (*3,5-dihydroxy-2-(3-hydroxy-4-((methylamino)methoxy)phenyl)-7-methoxy-4H-chromen-4-one*); **QC6_9** (*2-(3,4-bis(methylamino)methoxy)phenyl)-3,5-dihydroxy-7-methoxy-4H-chromen-4-one*).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

1. Dari analisis hubungan kuantitatif struktur–aktivitas (HKSA) dengan metode MLR, diperoleh model persamaan HKSA:

$$\text{LogIC}_{50} = 23,059 + (7,397 \times \log P) + (0,273 \times \text{momen dipol}) - (0,005 \times \text{panas pembentukan}) - (0,733 \times E_{\text{LUMO}}) - (0,501 \times E_{\text{HOMO}})$$

dengan parameter, $n = 12$; $R = 0,966$; $R^2 = 0,933$; $SE = 0,110881$; $F_{\text{hit}}/F_{\text{tabel}} = 3,829853$; $Q^2 = 0,752226$; dan $PRESS = 0,274208$.

2. Berdasarkan model persamaan HKSA, desain senyawa baru termodifikasi substituen O-alkilamino dengan nilai prediksi aktivitas (IC_{50}) penghambatan proliferasi terbaik adalah QC6_7 dan QC6_8, masing-masing $1,76 \mu\text{M}$ dan $1,98 \mu\text{M}$.
3. Hasil penambatan molekul dengan program DOCK 6.9 menunjukkan nilai afinitas senyawa QC6_7 dan QC6_8, masing-masing $-77,6986 \text{ kkal/mol}$ dan $-79,4575 \text{ kkal/mol}$.

5.2. Saran

1. Hasil penelitian ini merupakan pemodelan molekul yang hanya memprediksikan aktivitas secara komputasi. Dengan demikian, perlu dilakukan sintesis senyawa baru rhamnetin termodifikasi O-alkilamino, QC6_7 (*3,5-dihydroxy-2-(4-hydroxy-3-((methylamino) methoxy)phenyl)-7-methoxy-4H-chromen-4-one*) dan QC6_8 (*3,5-dihydroxy-2-(3-hydroxy-4-((methylamino)methoxy)phenyl)-7-methoxy-4H-chromen-4-one*), dan pengujian aktivitas dengan *MTT Assay* terhadap sel kanker paru A549.

DAFTAR PUSTAKA

- Allen, W.J., Balius, T.E., Mukherjee, S., Brozell, S.R., Moustakas, D.T., Lang, P.T., Case, D.A., Kuntz, I.D., and Rizzo, R.C. (2015) 'DOCK 6: Impact of new features and current docking performance', *Journal of Computational Chemistry*, 36(15), pp. 1132–1156.
- Ananto, A.D., Mudasir., Armunanto, R. (2020) 'Pelatihan Kimia Komputasi untuk Guru dan Mahasiswa di SMKN 3 Mataram 1', *Jurnal Ilmiah Populer*, 2(2), pp. 112–116.
- Anwar, T., Kumar, P., Khan, A.U. (2021) *Molecular Docking for Computer-Aided Drug Design*. Edited by Mohane S Coumar. Academic Press, Elsevier Inc.
- Arifin, B. and Ibrahim, S. (2018) 'Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid', *Jurnal Zarah*, 6(1), pp. 21–29.
- Bagheri, M., Yerramsetty, K., Gasem, K.A.M., and Neely, B.J. (2013) 'Molecular modeling of the standard state heat of formation', *Energy Conversion and Management*, 65, pp. 587–596.
- Bennion, B.J., Be, N.A., McNerney, M.W., Lao, V., Carlson, E.M., Valdez, C.A., Malfatti, M.A., Enright, H.A., Nguyen, T.H., Lightstone, F.C., Carpenter, T.S. (2017) 'Predicting a Drug's Membrane Permeability: A Computational Model Validated with in Vitro Permeability Assay Data', *Journal of Physical Chemistry B*, 121(20), pp. 5228–5237.
- Boly, R., Gras, T., Lamkami, T., Guissou, P., Sertven, D., Kiss, R., and Dubois, J. (2011) 'Quercetin Inhibits a Large Panel of Kinases Implicated in Cancer Cell Biology', *International Journal of Oncology*, 38(3), pp. 833–842.
- Brozell, S.R., Mukherjee, S., Balius, T.E., Roes, D.R., Case, D.A., and Rizzo, R.C. (2012) 'Evaluation of DOCK 6 as a Pose Generation and Database Enrichment Tool', *Journal of Computer-Aided Molecular Design*. Kluwer Academic Publishers, pp. 749–773.
- Chen, H., Yang, Z., Ding, C., Chu, L., Zhang, Y., Terry, K., Liu, H., Shen, Q., Zhou, J. (2013) 'Discovery of O-alkylamino-tethered Niclosamide Derivatives as Potent and Orally Bioavailable Anticancer Agents', *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 4(2), pp. 180–185.
- Chen, H., Mrazek, A.A., Wang, X., Ding, C., Ding, Y., Porro, L.J., Liu, H., Chao, C., Hellmich, M.R., Zhou, J. (2014) 'Design, Synthesis, and Characterization of Novel Apigenin Analogues that Suppress Pancreatic

- Stellate Cell Proliferation In Vitro and Associated Pancreatic Fibrosis In Vivo', *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 22(13), pp. 3393–3404.
- Couch, G.S., Hendrix, D.K. and Ferrin, T.E. (2006) 'Nucleic Acid Visualization with UCSF Chimera', *Nucleic Acids Research*, 34(4).
- Dastmaslchi, S., Hamzeh-Mivehroud, M. and Sokouti, B. (2018) *Quantitative Structure - Activity Relationship: A Practical Approach*. CRC Press.
- Detterbeck, F.C. (2018) 'The Eighth Edition TNM Stage Classification for Lung Cancer: What Does It Mean on Main Street?', *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 155(1), pp. 356–359.
- Elumalai, P., Ezhilarasan, D. and Raghunandhakumar, S. (2021) 'Quercetin Inhibits the Epithelial to Mesenchymal Transition through Suppressing Akt Mediated Nuclear Translocation of β -Catenin in Lung Cancer Cell Line', *Nutrition and Cancer*.
- Ferlay, J., Colombet, M., Soerjomataram, I., Mathers, C., Parkin, D.M., Pineros, M., Znaor, A., Bray, F. (2019) 'Estimating The Global Cancer Incidence and Mortality in 2018: GLOBOCAN Sources and Methods', *International Journal of Cancer*, 144(8), pp. 1941–1953.
- Ferreira, M.M.C. (2002) *Multivariate QSAR*, *J. Braz. Chem. Soc.*
- Gazdar, A.F. (2010) 'Epidermal Growth Factor Receptor Inhibition in Lung Cancer: The Evolving Role of Individualized Therapy', *Cancer Metastasis Reviews*, 29(1), p. 37.
- Ghose, A.K., Viswanadhan, V.N. and Wendoloski, J.J. (1999) 'A Knowledge-based Approach in Designing Combinatorial or Medicinal Chemistry Libraries for Drug Discovery. A Qualitative and Quantitative Characterization of Known Drug Databases', *Journal of Combinatorial Chemistry*, 1(1), pp. 55–68.
- Haaland, Arne. (2018) *Molecules and Models: The Molecular Structure of Main Group Element Compounds*, United Kingdom: Oxford University Press.
- Hashemzaei, M., Far, A.D., Yari, A., Heravi, R.E., Tabrizian, K., Taghdisi, S.M., Sadegh, S.E., Tsarouhas, K., Kouretas, D., Tzanakakis, G., Nikitovic, D., Anisimov, N.Y., Spandidos, D.A., Tsatsakis, A.M., Rezaee, R. (2017) 'Anticancer and apoptosis-inducing effects of quercetin in vitro and in vivo', *Oncology Reports*, 38(2), pp. 819–828.
- Haugen, A. *et al.* (2008) *Textbook of Lung Cancer*. Second Edi. Edited by H. Hansen. United Kingdom: Informa UK Ltd.

- Henschke, C.I., McCarthy, Peggy. and Wernick, Sarah. (2002) 'Lung Cancer: Myths, Facts, Choices-- and Hope', p. 389.
- Hsu, P.C., Jablons, D.M., Yang, C.T., You, L. (2019) 'Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) Pathway, Yes-Associated Protein (YAP) and The Regulation of Programmed Death-Ligand 1 (PD-L1) in Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC)', *International Journal of Molecular Sciences*, 20(15).
- Jiang, H., Zhu, M., Li, Y., Li, Q. (2019) 'Association between EGFR Exon 19 or Exon 21 Mutations and Survival Rates After First-line EGFR-TKI Treatment in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer', *Molecular and Clinical Oncology*, 11(3), pp. 301–308.
- Jurišić, V., Obradovic, J., Pavlovic, S., and Djordjevic, N. (2018) 'Epidermal Growth Factor Receptor Gene in Non-Small-Cell Lung Cancer: The Importance of Promoter Polymorphism Investigation', *Analytical Cellular Pathology* (Vol. 2018). Hindawi Limited.
- Kasikci, M.B. and Bagdatlioglu, N. (2016) 'Bioavailability of Quercetin', *Current Research in Nutrition and Food Science*, pp. 146–151.
- Keyvanpour, M.R. and Shirzad, M.B. (2021) 'An Analysis of QSAR Research Based on Machine Learning Concepts', *Current Drug Discovery Technologies*, 18(1), pp. 17–30.
- Khan, F., Niaz, K., Maqbool, F., Hassan, F.I., Abdollahi, M., Venkata, K.C.N., Nabayi, S.M., and Bishayee, A. (2016) 'Molecular Targets Underlying The Anticancer Effects of Quercetin: An Update', *Nutrients*, 8(9).
- Kilo, A. la (2018) *Kimia Anorganik: Struktur dan Kereaktifan*. Gorontalo: UNG Press.
- Kim, D.H., Khan, H., Ullah, H., Hassan, S.T.S., Smejkal, K., Efferthm T., Mahomoodally, M.F., Xu, S., Habtemariam, S., Filosa, R., Lagoa, R., Rengasamy, K.R.R. (2019) 'MicroRNA Targeting by Quercetin in Cancer Treatment and Chemoprotection', *Pharmacological Research*, 147(July).
- Kubinyi, H. (1993) *QSAR: Hansch Analysis and Related Approaches*. Volume 1. Edited by Prof.R. Mannhold, Prof.P.K. Larsen, and Prof.H. Timmerman. Weinheim; New York; Basel; Cambridge; Tokyo: VCH Verlagsgesellschaft mbH.
- Kumer, A., Sarker, M.N. and Paul, S. (2019) 'The Theoretical Investigation of HOMO, LUMO, Thermophysical Properties and QSAR Study of Some Aromatic Carboxylic Acids using HyperChem Programming', *International Journal of Chemistry and Technology*, 3(1), pp. 26–37.

- Kwon, S., Bae, H., Jo, J., and Yoon, S. (2019) 'Comprehensive Ensemble in QSAR Prediction for Drug Discovery', *BMC Bioinformatics*, 20(1).
- Labute, P. (2004) 'Derivation and Applications of Molecular Descriptors Based on Approximate Surface Area', in Jurgen Bajorath (ed.) *Methods in Molecular Biology, Vol 275: Chemoinformatics: Concepts, Methods, and Tools for Drug Discovery*. Totowa, New Jersey: Humana Press.
- Leach, A.R. (2001) *Molecular Modelling: Principles and Applications, Second Edition*. Second Edi. England: Pearson Education Ltd.
- Le Fevre, R.J.W. (1965) '*Molecular Refractivity and Polarizability*', Australia, University of Sydney.
- Li, J., Fu, A. and Zhang, L. (2019) 'An Overview of Scoring Functions Used for Protein–Ligand Interactions in Molecular Docking', *Interdisciplinary Sciences – Computational Life Sciences*, 11(2), pp. 320–328.
- Liu, L. and Corma, A. (2020) 'Evolution of Isolated Atoms and Clusters in Catalysis', *Trends in Chemistry (Cell Press)*, 2(4), pp. 383–400.
- Liu, T.-C., Jin, X., Wang, T., and Wang, K. (2017) 'Role of Epidermal Growth Factor Receptor in Lung Cancer and Targeted Therapies', *Am J Cancer Res*, 7(2).
- Liu, Z., Ren, Z., Zhang, J., Chuang, C.C., Kandaswamy, E., Zhou, T., and Zuo, L. (2018) 'Role of ROS and Nutritional Antioxidants in Human Diseases', *Frontiers in Physiology*, 9(MAY).
- Madhan, B., Thanikaivelan, P., Subramanian, V., Rao, J.R., Nair, U., and Ramasami, T. (2001) 'Molecular Mechanics and Dynamics Studies on The Interaction of Gallic Acid with Collagen-like Peptides', *Chemical Physics Letters*, pp. 334–340.
- Male, Y.T., Sutapa, I.W., Yulian, A.D. (2018) 'Prediksi Potensi Antikanker Senyawa Turunan Xanthon menggunakan Hubungan Kuantitatif Struktur dan Aktivitas (HKSA)', *Chem. Prog*, 11(1).
- Mannhold, Raimund. (2008) '*Molecular Drug Properties: Measurement and Prediction*', Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH &Co. KGaA.
- Mayo, C., Bertran-Alamillo, J., Vila, M., Gimenez-Capitan, A., Costa, C., Rosell, R. (2012) 'Pharmacogenetics of EGFR in Lung Cancer: Perspectives and Clinical Applications', *Pharmacogenomics*, 13(7), pp. 789–802.
- Miar, M., Shiroudi, A., Pourshamsian, K., Olliaey, A.R., and Hatamjafari, F. (2021) 'Theoretical Investigations on the HOMO–LUMO Gap and Global

- Reactivity Descriptor Studies, Natural Bond Orbital, and Nucleus-Independent Chemical Shifts Analyses of 3-phenylbenzo[d]thiazole-2(3H)-imine and its Para-substituted Derivatives: Solvent and Substituent Effects', *Journal of Chemical Research*, 45(1–2), pp. 147–158.
- Mitternacht, S. (2016) 'FreeSASA: An Open Source C Library for Solvent Accessible Surface Area Calculations [version 1; referees: 2 approved]', *F1000Research*, 5.
- Moldoveanu, S.C. and David, V. (2017) 'Properties of Analytes and Matrices Determining HPLC Selection', in *Selection of the HPLC Method in Chemical Analysis*. Elsevier, pp. 189–230.
- Molina, J.R., Yang, P., Cassivi, S.D., Schild, S.E., Adjei, A.A. (2008) 'Non-Small Cell Lung Cancer: Epidemiology, Risk Factors, Treatment, and Survivorship', *Mayo Clinic proceedings. Mayo Clinic*, 83(5), p. 584.
- Moustakas, D.T., Lang, P.T., Pegg, S., Pettersen, E., Kuntz, I.D., Brooijmans, N., and Rizzo, R.C. (2006) 'Development and Validation of a Modular, Extensible Docking Program: DOCK 5', *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 20(10–11), pp. 601–619.
- Nagasaka, M. and Gadgeel, S.M. (2018) 'Role of Chemotherapy and Targeted Therapy in Early-Stage Non-Small Cell Lung Cancer', *Expert Review of Anticancer Therapy*, 18(1), p. 63.
- Noor, Z.S. *et al.* (2019) *Targeted Therapies for Lung Cancer*. Edited by R. Salgia. Duarte, CA, USA: Springer.
- Noro, R. *et al.* (2006) 'Gefitinib (IRESSA) Sensitive Lung Cancer Cell Lines Show Phosphorylation of Akt Without Ligand Stimulation', *BMC Cancer*, 6.
- Ooi, T., Oobatake, M., Nemethy, G., and Scheraga, H.A. (1987) 'Accessible Surface Areas as a Measure of the Thermodynamic Parameters of Hydration of Peptides.', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 84(10), pp. 3086–90.
- Oukil, O., Tchouar, N., Belaidi, S., Salah, T., and Cinar, M. (2017) 'Structural Investigation, Drug Likeness Scoring and Structure Activity/Property Relationships Applied on 1,2,3-Thiadiazole Derivatives, with Kinase Inhibitors Activity', *Rev. Roum. Chim.*, 62(1), pp. 81–92.
- Pannala, A.S., Chan, T.S., O'Brien, P.J., and Rice-Evans, C.A. (2001) 'Flavonoid B-ring Chemistry and Antioxidant Activity: Fast Reaction Kinetics', *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 282(5), pp. 1161–1168.

- Paramita, S., Maylani P.S., Eva, V.Y.D., Nasrokhah, Iswanto, P. (2020) 'Pemilihan Metode Perhitungan Kimia Komputasi Semi-empiris untuk Pengembangan 1,3,4-Thiadiazole', *Indonesian Journal of Chemical Research*, 8(1), pp. 51–56.
- Patrick, G.L. (2013) *An Introduction to Medicinal Chemistry, Fifth Edition*. Oxford University Press.
- Pecorino, L. (2016) *Molecular Biology of Cancer: Mechanisms, Targets, and Therapeutics*. Fourth edition. New York: Oxford University Press.
- Pines, G., Köstler, W.J. and Yarden, Y. (2010) 'Oncogenic Mutant Forms of EGFR: Lessons in Signal Transduction and Targets for Cancer Therapy', *FEBS Letters*, 584(12), pp. 2699–2706.
- Pinzi, L. and Rastelli, G. (2019) 'Molecular Docking: Shifting Paradigms in Drug Discovery', *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG.
- Pranowo, H.D. (2003) *Kimia Komputasi*. Yogyakarta: Kimia FMIPA Universitas Gadjah Mada.
- Putri, D.E.K., Pranowo, H.D., Wijaya, A.R., Suryani, N., Utami, M., Suma, A.A.T. dkk. (2022) 'The Predicted Models of Anti-Colon Cancer and Anti-Hepatoma Activities of Substituted 4-anilino Coumarin Derivatives Using Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR)', *Journal of King Saud University - Science*, 34.
- Radhi, A.H., Abbas, Z.M., Almashhadani, H.A., Kadhim, M.M. (2020) 'HOMO-LUMO Energies and Geometrical Structures Effecton Corrosion Inhibition for Organic Compounds Predict by DFT and PM3 Methods', *NeuroQuantology*, 18(1), pp. 37–45.
- Rakhman, K.A., Limatahu, N.A., Karim, H.B., Abdjan, M.I. (2019) 'Kajian Senyawa Turunan Benzopirazin sebagai Antimalaria menggunakan Metode HKSA dan MLR', *EduChemia (Jurnal Kimia dan Pendidikan)*, 4(2), p. 112.
- Remon, J., Moran, T., Majem, M., Reguart, N., Dalmau, E., Marquez-Medina, D., Lianes, P. (2014) 'Acquired Resistance to Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibitors in EGFR-mutant Non-small Cell lung Cancer: A New Era Begins', *Cancer Treatment Reviews*, pp. 93–101.
- Rezki, M.N., Andika and Rahmawati (2022) 'Studi Penambatan Molekuler Senyawa Metabolit Sekunder Buah Semangka (*Citrullus lanatus*) yang Berpotensi sebagai Anti Inflamasi melalui Inhibisi COX-2', *Medical Sains: Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 7(3), pp. 609–620.

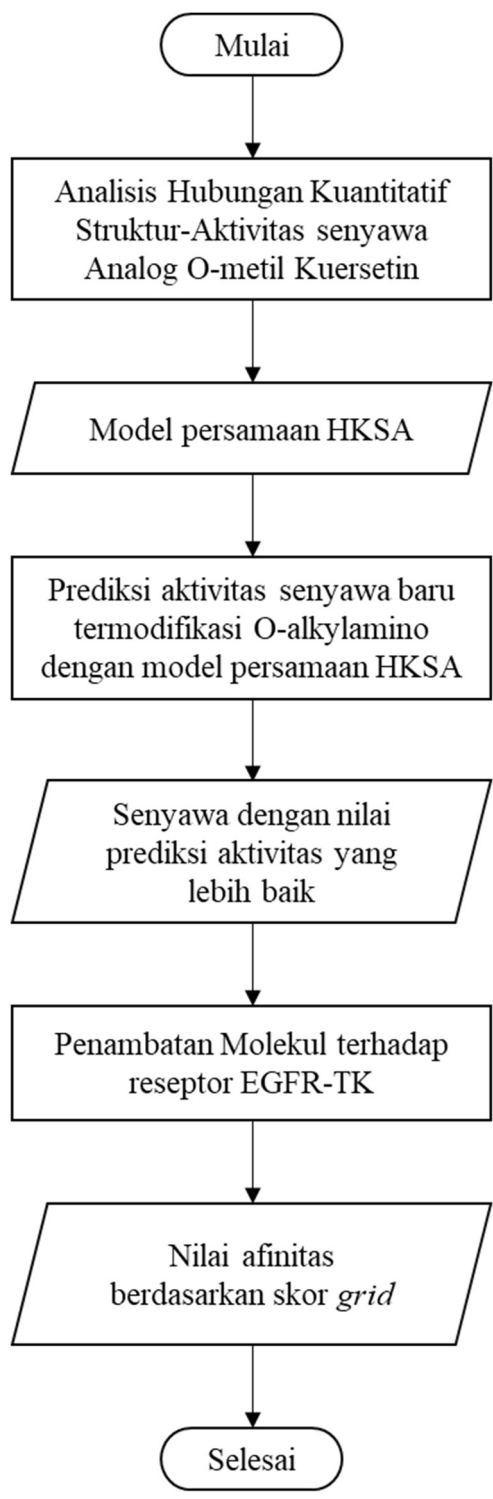
- Rohlf, J.W. (1994) *Modern Physics from α to Z*. John Wiley & Sons, Inc.
- Rouane, A., Tchour, N., Kerassa, A., Cinar, M., Belaidi, S. (2018) 'Qualitative and Quantitative Structure-Activity Relationships Studies of Quercetin Derivatives as Chemotherapeutic Activity', *Journal of Bionanoscience*, 12(2), pp. 278–283.
- Sak, K., Lust, H., Kase, M., Jaal, J. (2018) 'Cytotoxic Action of Methylquercetins in Human Lung Adenocarcinoma Cells', *Oncology Letters*, 15, pp. 1973–1978.
- Sangande, F. and Uneputti, J.P. (2021) 'Identifikasi Senyawa Bahan Alam sebagai Inhibitor Tirosin Kinase EGFR: Skrining In Silico Berbasis Farmakofor dan Molecular Docking', *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*, 8(1), pp. 1–6.
- Saputra, A., Wijaya, K., Ahmad, M.N., Tahir, I. (2013) 'Penggunaan Metode Semiempirik AM1 untuk Pemilihan Monomer Fungsional Efektif pada Prasintesis Polimer Tercetak Diazinon, Prof. Dr. Sumantri Brojonegoro', *Valensi*, 3(1).
- Saputra, A.S., Gusti, D.I., Sanjaya, M. (2014) 'A Theoretical Studies to Determine Band Gap of 8-hydroxyquinoline Complexes with Iron Metal by using Density Functional Theory', *Journal of Chemistry*, 3(2).
- Scott, W. (2012) 'Lung Cancer: A Guide to Diagnosis and Treatment', p. 110.
- Scotti, L. *et al.* (2013) 'SAR, QSAR and Docking of Anticancer Flavonoids and Variants: A Review', *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 12(24), pp. 2785–2809.
- Sethi, A. *et al.* (2020) 'Molecular Docking in Modern Drug Discovery: Principles and Recent Applications', in *Drug Discovery and Development - New Advances*. IntechOpen.
- Shi, Z.H. *et al.* (2014) 'Biological Evaluation and SAR Analysis of O-methylated Analogs of Quercetin as Inhibitors of Cancer Cell Proliferation', *Drug Development Research*, 75(7), pp. 455–462.
- Singh, P. *et al.* (2021) 'The Role of Quercetin in Plants', *Plant Physiology and Biochemistry*, 166, pp. 10–19.
- Sung, H. *et al.* (2021) 'Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries', *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), pp. 209–249.

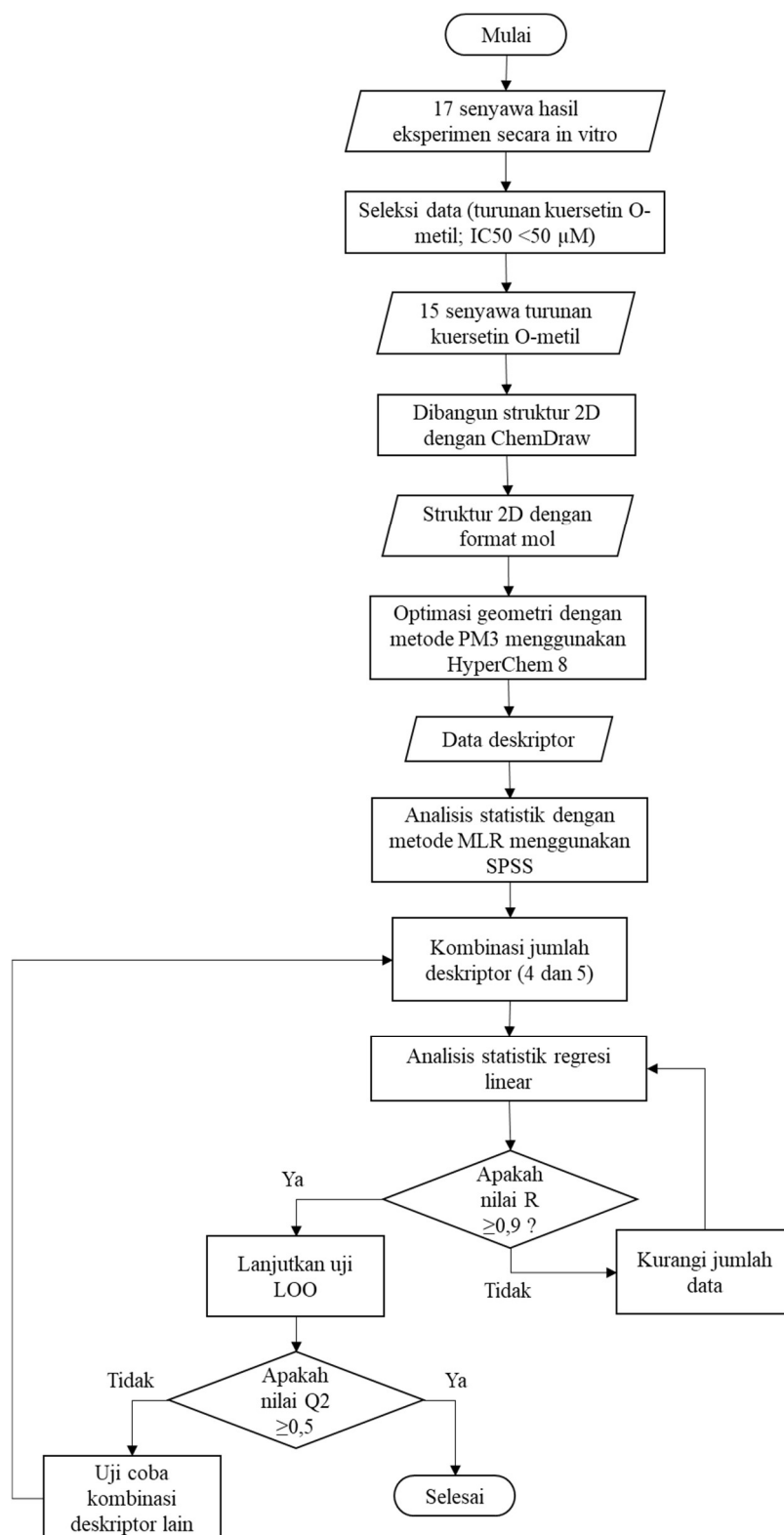
- Tantishaiyakul, V. (2004) 'Prediction of Aqueous Solubility of Organic Salts of Diclofenac using PLS and Molecular Modeling', *International Journal of Pharmaceutics*, 275(1–2), pp. 133–139.
- The Global Cancer Observatory (2020) 'Cancer Incident in Indonesia', *International Agency for Research on Cancer*, 858, pp. 1–2.
- Todeschini, R. *et al.* (2020) 'Chemometrics for QSAR Modeling', in *Comprehensive Chemometrics*. Elsevier, pp. 599–634.
- Veiko, A.G., Lapshina, E.A. and Zavodnik, I.B. (2021) 'Comparative Analysis of Molecular Properties and Reactions with Oxidants for Quercetin, Catechin, and Naringenin', *Molecular and Cellular Biochemistry*, 476(12), pp. 4287–4299.
- Vinayak, M. and Maurya, A.K. (2019) 'Quercetin Loaded Nanoparticles in Targeting Cancer: Recent Development', *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 19(13), pp. 1560–1576.
- Vinod, S.K. and Hau, E. (2020) 'Radiotherapy Treatment for Lung Cancer: Current Status and Future Directions', *Respirology (Carlton, Vic.)*, 25 Suppl 2(S2), pp. 61–71.
- Wagener, Prof.Dr.C., Stocking, Dr.C. and Mueller, Prof.Dr.O. (2017) *Cancer Signaling from Molecular Biology to Targeted Therapy*. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.
- Wee, P. and Wang, Z. (2017) 'Epidermal Growth Factor Receptor Cell Proliferation Signaling Pathways', *Cancers*, 9(5), pp. 1–45.
- Weinberg, R.A. (2014) *The Biology of Cancer*. Second Edi. Garland Science, Taylor & Francis Group, LLC.
- Wen, X. and Walle, T. (2006) 'Methylated Flavonoids have greatly Improved Intestinal Absorption and Metabolic Stability', *Drug Metabolism and Disposition*, 34(10), pp. 1786–1792.
- WHO. (2019) *Guide for Establishing a Pathology Laboratory in the Context of Cancer Control*. World Health Organization.
- Xu, D. *et al.* (2019) 'Antioxidant Activities of Quercetin and Its Complexes for Medicinal Application', *Molecules*, 24(6).
- Yoneda, K. *et al.* (2019) 'Treatment of Non-small Cell Lung Cancer with EGFR-mutations', *Journal of UOEH*, 41(2), pp. 153–163.
- Young, D.C. (2001) *Computational Chemistry: A Practical Guide for Applying Techniques to Real-World Problems*. John Wiley & Sons, Inc.

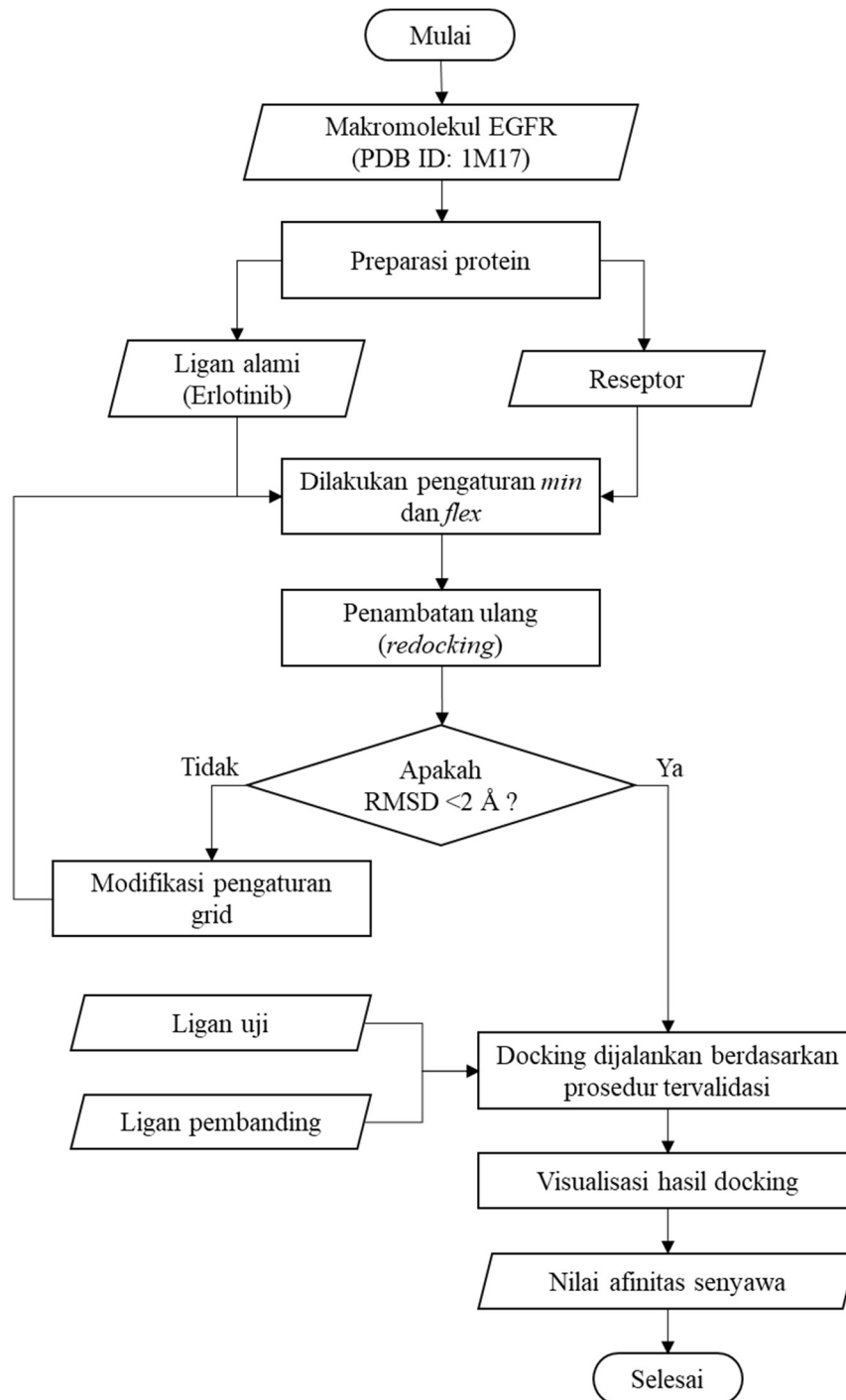
- Zhou, G., Lubbers, N., Barros, K., Tretiak, S., Nebgen, B. (2022) ‘Deep Learning of Dynamically Responsive Chemical Hamiltonians with Semiempirical Quantum Mechanics’, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 119(27).
- Zubair, M.S. *et al.* (2021) ‘In vitro and in silico Studies of Quercetin and Daidzin as Selective Anticancer Agents’, *Indonesian Journal of Chemistry*, 21(2), pp. 310–317.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur penelitian



Lampiran 2. Diagram alur hubungan kuantitatif struktur dan aktivitas

Lampiran 3. Diagram alur penambatan molekuler

Lampiran 4. Output SPSS analisis regresi linier berganda metode *backward*

Variables Entered/Removed ^a			
Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	VOL, LUMO, TotMD, HOMO, HoF, Ebin, SAA, SAG, Ehidr, LogP ^b	.	Enter
2	.	Ehidr	Backward (criterion: Probability of F-to-remove >= ,100).
3	.	Ebin	Backward (criterion: Probability of F-to-remove >= ,100).

a. Dependent Variable: LogIC50

b. Tolerance = ,000 limit reached.

Model Summary				
Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	,973 ^a	,947	,813	,1245460
2	,970 ^b	,940	,833	,1177264
3	,961 ^c	,924	,822	,1216030

a. Predictors: (Constant), VOL, LUMO, TotMD, HOMO, HoF, Ebin, SAA, SAG, Ehidr, LogP

b. Predictors: (Constant), VOL, LUMO, TotMD, HOMO, HoF, Ebin, SAA, SAG, LogP

c. Predictors: (Constant), VOL, LUMO, TotMD, HOMO, HoF, SAA, SAG, LogP

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized	t	Sig.
		B	Std. Error	Coefficients Beta		
1	(Constant)	-912,146	202,818		-4,497	,011
	LogP	-204,455	46,991	-24,688	-4,351	,012
	Ebin	,001	,001	,507	,770	,484
	TotMD	,624	,156	2,063	4,012	,016
	Ehidr	-,069	,101	-1,267	-,684	,532
	HoF	-,044	,011	-4,439	-4,155	,014
	HOMO	1,551	,501	1,085	3,097	,036
	LUMO	-3,715	1,153	-,814	-3,221	,032
	SAA	,028	,008	4,604	3,756	,020
	SAG	-,126	,027	-15,782	-4,626	,010
	VOL	,183	,036	41,715	5,129	,007
2	(Constant)	-959,639	180,117		-5,328	,003
	LogP	-216,977	40,905	-26,200	-5,304	,003
	Ebin	,001	,001	,680	1,184	,290
	TotMD	,665	,136	2,198	4,899	,004
	HoF	-,041	,009	-4,138	-4,497	,006
	HOMO	1,442	,449	1,008	3,213	,024
	LUMO	-3,270	,900	-,716	-3,633	,015
	SAA	,029	,007	4,673	4,046	,010
	SAG	-,132	,024	-16,563	-5,450	,003
	VOL	,187	,033	42,612	5,616	,002
	3	(Constant)	-933,607	184,657		-5,056
LogP		-210,705	41,896	-25,442	-5,029	,002
TotMD		,631	,137	2,085	4,605	,004
HoF		-,040	,009	-4,025	-4,257	,005
HOMO		1,275	,440	,892	2,897	,027
LUMO		-3,023	,904	-,662	-3,343	,016
SAA		,027	,007	4,361	3,755	,009
SAG		-,124	,024	-15,559	-5,162	,002
VOL		,177	,033	40,372	5,319	,002

a. Dependent Variable: LogIC50

Lampiran 5. Model hasil regresi linear kombinasi beberapa deskriptor

Model	Deskriptor	n	m	R	R ²	SEE
1	ELUMO, E _{HOMO} , Log P	15	3	0,674	0,455	0,240268
2	ELUMO, SAG, Log P	15	3	0,691	0,478	0,235047
3	Molar Volume, ELUMO, SAG	15	3	0,670	0,448	0,241662
4	Molar Volume, SAG, log P	15	3	0,781	0,611	0,212931
5	Molar Volume, SAA, SAG, log P	15	4	0,781	0,611	0,212931
6	Molar Volume, E _{HOMO} , SAG, log P	15	4	0,783	0,613	0,212153
7	Molar Volume, Panas Pembentukan, SAG, log P	15	4	0,777	0,603	0,214960
8	ELUMO, Panas Pembentukan, Momen Dipol, log P	15	4	0,748	0,559	0,226514
9	Molar Volume, ELUMO, Panas Pembentukan, SAG, log P	15	5	0,777	0,603	0,226571
10	Molar Volume, Panas Pembentukan, SAA, SAG, log P	15	5	0,781	0,611	0,224448
11	Molar Volume, E _{HOMO} , Panas Pembentukan, SAG, log P	15	5	0,791	0,626	0,220015
12	Molar Volume, E _{HOMO} , Momen Dipol, SAG, log P	15	5	0,789	0,623	0,220872
13	Molar Volume, Panas Pembentukan, Momen Dipol, SAG, log P	15	5	0,842	0,709	0,194188
14	Molar Volume, ELUMO, Momen Dipol, SAG, log P	15	5	0,788	0,621	0,221567
15	Molar Volume, ELUMO, SAA, SAG, log P	15	5	0,784	0,614	0,223382
16	Molar Volume, E _{HOMO} , SAA, SAG, log P	15	5	0,798	0,637	0,216643
17	Molar Volume, Momen Dipol, SAA, SAG, log P	15	5	0,814	0,663	0,208812
18	ELUMO, E _{HOMO} , Panas Pembentukan, Momen Dipol, log P	15	5	0,751	0,564	0,237455

Keterangan: n adalah banyaknya data senyawa; m adalah jumlah deskriptor; R adalah koefisien korelasi; R² adalah koefisien determinasi; SEE (*Standard Error of the Estimation*) adalah estimasi keakuratan prediksi; model adalah representasi regresi linier. SAA adalah *surface area (approximation)*; SAG adalah *surface area (grid)*.

Lampiran 6. Output SPSS analisis regresi model persamaan 18

Analisis regresi linier berganda dengan jumlah 15 data. Dengan persamaan:

$$y = 9,896 + (2,507 \times \log P) + (0,092 \times \text{momen dipol}) + (0,002 \times \text{panas pembentukan}) - (0,143 \times E_{\text{HOMO}}) + (0,246 \times E_{\text{LUMO}})$$

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	,751 ^a	,564	,322	,2374547

a. Predictors: (Constant), LUMO, LogP, HOMO, TotMD, HoF

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	9,896	13,337		,742	,477
	LogP	2,507	3,936	,303	,637	,540
	TotMD	,092	,162	,305	,569	,583
	HoF	,002	,008	,239	,303	,769
	HOMO	-,143	,453	-,100	-,316	,759
	LUMO	,246	1,181	,054	,208	,840

a. Dependent Variable: LogIC50

Analisis regresi linier berganda dengan jumlah 12 data. Dengan persamaan:

$$y = 23,059 + (7,397 \times \log P) + (0,273 \times \text{momen dipol}) - (0,005 \times \text{panas pembentukan}) - (0,501 \times E_{\text{HOMO}}) - (0,733 \times E_{\text{LUMO}})$$

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	,966 ^a	,933	,878	,1108806

a. Predictors: (Constant), LUMO, HOMO, LogP, TotMD, HoF

ANOVA^a

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	1,033	5	,207	16,803	,002 ^b
	Residual	,074	6	,012		
	Total	1,107	11			

a. Dependent Variable: LogIC50

b. Predictors: (Constant), LUMO, HOMO, LogP, TotMD, HoF

Coefficients^a

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized	t	Sig.
		B	Std. Error	Coefficients Beta		
1	(Constant)	23,059	7,262		3,176	,019
	LogP	7,397	2,405	,840	3,076	,022
	TotMD	,273	,103	,804	2,648	,038
	HoF	-,005	,005	-,502	-1,044	,337
	HOMO	-,501	,271	-,316	-1,850	,114
	LUMO	-,733	,577	-,155	-1,270	,251

a. Dependent Variable: LogIC50

Lampiran 7. Validasi model persamaan hasil regresi linier berganda dari kombinasi beberapa deskriptor

Model	Persamaan	n	m	R	R ²	SEE	F _{hit} /F _{tabel}	Q ²	PRESS
4	$Y = -120,572 + (-27,103 \times \log P) + (-0,019 \times \text{SAG}) + (0,028 \times \text{Molar Volume})$	12	3	0,901	0,811	0,1616656	2,813205	-0,80812	2,0
5	$Y = -21,294 + (-4,61 \times \log P) + (-0,005 \times \text{SAA}) + (-0,033 \times \text{SAG}) + (-0,026 \times \text{Molar Volume})$	12	4	0,943	0,889	0,1255725	3,395617	-0,61209	1,600453
6	$Y = -242,578 + (-56,894 \times \log P) + (1,166 \times E_{\text{HOMO}}) + (-0,026 \times \text{SAG}) + (0,049 \times \text{Molar Volume})$	12	4	0,926	0,858	0,1467178	2,556359	-0,95125	2,063611
7	$Y = -101,996 + (-22,694 \times \log P) + (0,000093 \times \text{Panas Pembentukan}) + (-0,011 \times \text{SAG}) + (0,022 \times \text{Molar Volume})$	12	4	0,927	0,860	0,1489902	2,608298	0,04653	1,057913
8	$Y = -19,786 + (5,036 \times \log P) + (0,189 \times \text{Momen Dipol}) + (0,001 \times \text{Panas Pembentukan}) + (-0,570 \times E_{\text{LUMO}})$	12	4	0,946	0,895	0,1286361	3,633463	0,96451	0,310212
9	$Y = -135,038 + (-29,583 \times \log P) + (-0,004 \times \text{Panas Pembentukan}) + (-1,001 \times E_{\text{LUMO}}) + (-0,016 \times \text{SAG}) + (0,029 \times \text{Molar Volume})$	12	5	0,943	0,889	0,1429982	2,200177	-1,1249	2,3576
10	$Y = -68,959 + (-15,022 \times \log P) + (-0,001 \times \text{Panas Pembentukan}) + (-0,002 \times \text{SAA}) + (-0,009 \times \text{SAG}) + (0,018 \times \text{Molar Volume})$	12	5	0,929	0,863	0,1592503	1,721075	-4,8255	6,4636
11	$Y = -296,239 + (-68,658 \times \log P) + (-0,005 \times \text{Panas Pembentukan}) + (1,151 \times E_{\text{HOMO}}) + (-0,035 \times \text{SAG}) + (0,061 \times \text{Molar Volume})$	12	5	0,926	0,858	0,151794	1,653153	-0,8852	1,8137
12	$Y = -132,599 + (-30,751 \times \log P) + (0,107 \times \text{Momen Dipol}) + (0,503 \times E_{\text{HOMO}}) + (-0,019 \times \text{SAG}) + (0,03 \times \text{Molar Volume})$	12	5	0,925	0,856	0,1590711	1,539189	-1,0259	2,1181
13	$Y = -105,958 + (-22,671 \times \log P) + (0,286 \times \text{Momen Dipol}) + (-0,011 \times \text{Panas Pembentukan}) + (-0,021 \times \text{SAG}) + (0,029 \times \text{Molar Volume})$	12	5	0,957	0,916	0,1246626	2,9728488	-0,13799	1,2594

No	Persamaan	n	m	R	R ²	SEE	F _{hit} /F _{tabel}	Q ²	PRESS
14	$Y = -56,815 + (-12,714 \times \log P) + (0,121 \times \text{Momen Dipol}) + (0,254 \times E_{\text{LUMO}}) + (-0,015 \times \text{SAG}) + (0,017 \times \text{Molar Volume})$	12	5	0,921	0,849	0,159276	1,539189	-1,454	2,47551
15	$Y = -147,37 + (-32,79 \times \log P) + (-1,042 \times E_{\text{LUMO}}) + (0,003 \times \text{SAA}) + (-0,014 \times \text{SAG}) + (0,027 \times \text{Molar Volume})$	12	5	0,942	0,887	0,144592	2,145930	-1,4498	2,7182
16	$Y = -230,253 + (-53,229 \times \log P) + (0,642 \times E_{\text{HOMO}}) + (0,003 \times \text{SAA}) + (-0,026 \times \text{SAG}) + (0,044 \times \text{Molar Volume})$	12	5	0,919	0,845	0,169364	1,489729	-1,4675	2,7377
17	$Y = -169,552 + (-38,784 \times \log P) + (-0,232 \times \text{Momen Dipol}) + (0,009 \times \text{SAA}) + (-0,036 \times \text{SAG}) + (0,036 \times \text{Molar Volume})$	12	5	0,932	0,868	0,133645	1,802445	-0,2569	1,0224
18	$Y = 23,059 + (7,397 \times \log P) + (0,273 \times \text{Momen Dipol}) + (-0,005 \times \text{Panas Pembentukan}) + (-0,733 \times E_{\text{LUMO}}) + (-0,501 \times E_{\text{HOMO}})$	12	5	0,966	0,933	0,110881	3,829853	0,752226	0,274208

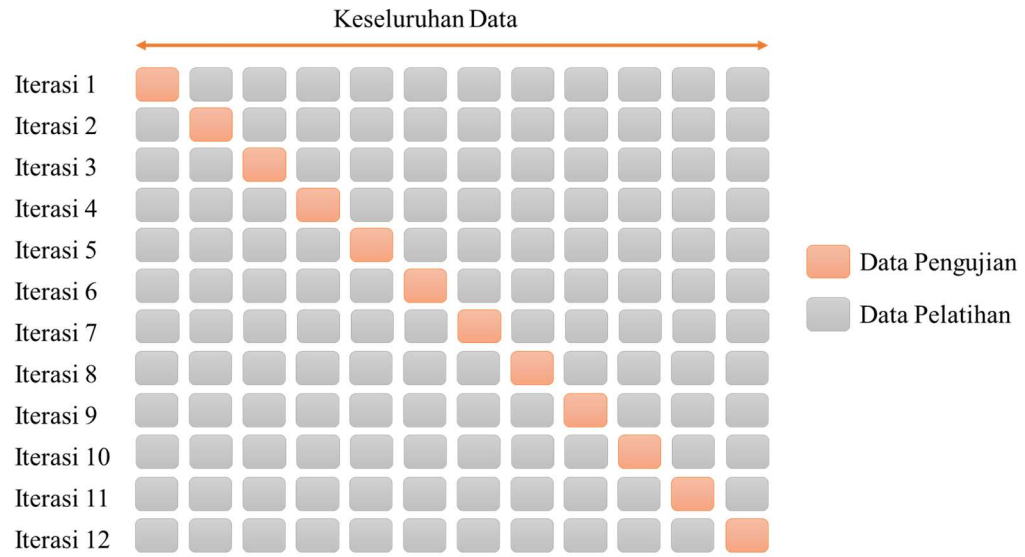
Keterangan: n adalah jumlah data senyawa; m adalah jumlah deskriptor; R adalah koefisien korelasi; R² adalah koefisien determinasi; Q² adalah koefisien validasi silang *leave-one-out*; PRESS (*predicted residual error sum of squares*) adalah bentuk validasi silang dalam analisis regresi untuk memberikan ringkasan ukuran kecocokan model dengan sampel pengamatan yang tidak digunakan untuk memperkirakan model.

Lampiran 8. Validasi model persamaan 18 dengan LOO (Q^2)

Kode	LogIC ₅₀ Eksp (y)	Konsta nta	log P		Momen Dipol		Heat of Formation		ELUMO		EHOMO		LogIC ₅₀ Prediksi (y')	(y-y') ²	(y- \bar{y}) ²
			Koef	Nilai	Koef	Nilai	Koef	Nilai	Koef	Nilai	Koef	Nilai			
QC3	0,4199557	22,183	7,209	-3,981	0,265	1,4872	-0,005	-217,0653	-0,709	-0,991	-0,525	-9,0379	0,4109456	8,118E ⁻⁵	0,14266
QC4	0,9106244	21,376	7,104	-3,981	0,280	3,6956	-0,005	-169,2159	-0,843	-1,1141	-0,546	-9,1968	0,9364783	0,00067	0,01276
QC6	0,4885507	24,513	7,984	-3,981	0,296	1,7618	-0,006	-217,9847	-0,600	-1,0721	-0,584	-8,7235	0,2958682	0,03713	0,09555
QC7	0,4969296	21,323	6,754	-3,949	0,254	1,8568	-0,004	-202,5358	-0,408	-0,8845	-0,477	-8,8920	0,5355569	0,00149	0,09044
QC9	0,7986506	20,828	6,507	-3,949	0,234	2,0807	-0,003	-209,2738	-0,707	-0,9853	-0,419	-8,9104	0,6766026	0,01490	9,9E ⁻⁷
QC10	1,0136797	22,795	7,303	-3,949	0,272	3,8894	-0,005	-151,6564	-0,712	-0,9933	-0,496	-9,1106	0,9977438	0,00025	0,04667
QC11	0,8241258	19,133	6,782	-3,949	0,201	2,6890	-0,004	-200,8729	-0,982	-0,9617	-0,692	-8,6577	0,6303424	0,03755	0,00070
QC12	0,4871384	30,767	9,278	-3,949	0,355	2,2266	-0,009	-207,8881	-1,273	-1,0517	-0,314	-8,6579	0,8470829	0,12956	0,09642
QC13	1,3178545	21,359	6,611	-3,918	0,247	3,4176	-0,004	-152,5533	-0,476	-1,0995	-0,408	-9,2124	1,1934836	0,01547	0,09642
QC14	0,6683859	24,741	8,221	-3,918	0,346	1,2120	-0,008	-191,7244	-0,598	-1,0443	-0,611	-8,8310	0,5045336	0,02685	0,27061
QC15	0,7708520	23,888	7,754	-3,918	0,280	1,4628	-0,006	-203,0709	-0,732	-0,9503	-0,549	-9,0300	0,7889427	0,00033	0,00072
QC17	1,3751147	24,305	7,632	-3,854	0,268	3,2063	-0,005	-128,3908	-0,695	-0,9752	-0,483	-9,1191	1,474902	0,00994	0,33346
\bar{y}	0,7976552												$\Sigma=$	0,27421	1,10669

$$PRESS = \sum (y_{eksperimen} - y_{prediksi})^2 = 0,27421$$

$$Q^2 = 1 - \frac{PRESS}{\sum (y - \bar{y})^2} = 1 - \frac{0,27421}{1,10669} = 0,752226$$

Lampiran 9. Simulasi proses validasi model persamaan dengan LOO (Q^2)

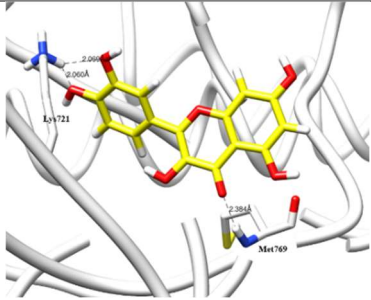
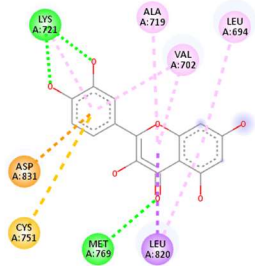
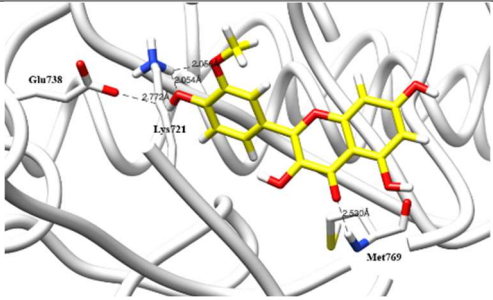
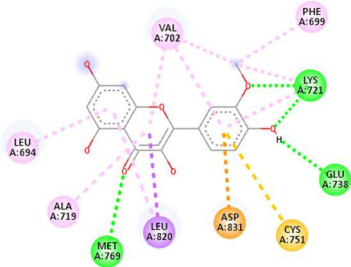
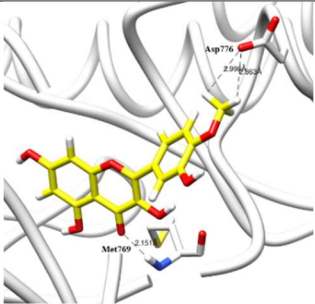
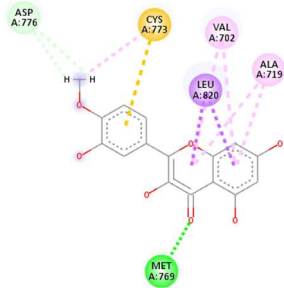
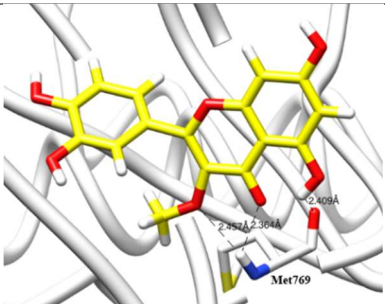
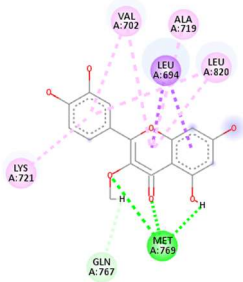
Lampiran 10. Hasil LogIC₅₀ prediksi dan IC₅₀ prediksi *data set* berdasarkan model persamaan 18.

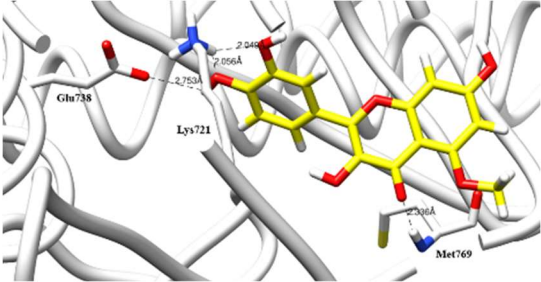
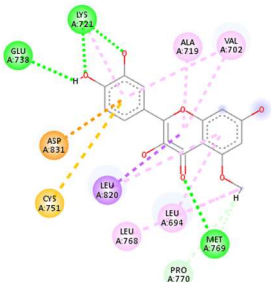
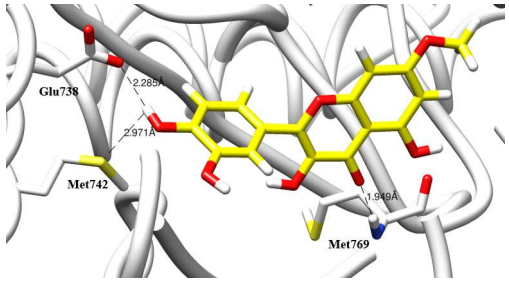
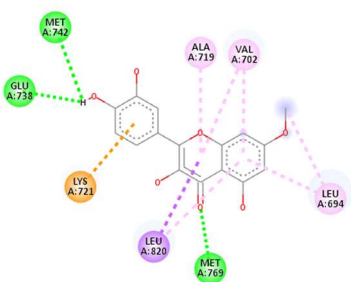
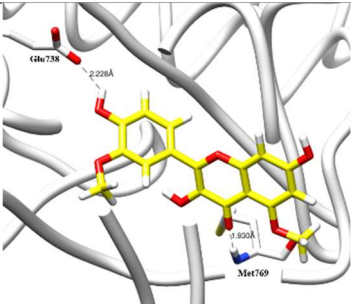
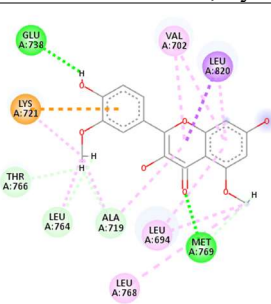
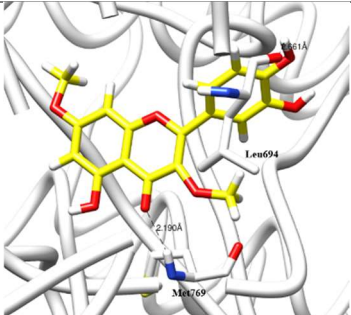
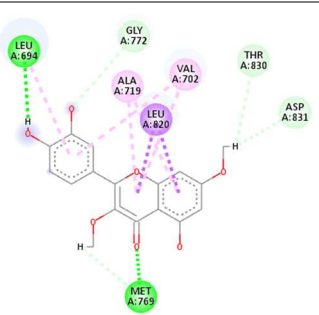
Kode	LogP		Momen Dipol		Panas Pembentukan		E _{HOMO}		E _{LUMO}		LogIC ₅₀ Prediksi	IC ₅₀ Prediksi (µM)
	Koef	Nilai	Koef	Nilai	Koef	Nilai	Koef	Nilai	Koef	Nilai		
QC3		-3,981		1,4872		-217,0653		-9,0379		-0,9910	0,3573	2,28
QC4		-3,981		3,6956		-169,2159		-9,1968		-1,1141	0,8908	7,78
QC6		-3,981		1,7618		-217,8947		-8,7235		-1,0721	0,3388	2,18
QC7		-3,949		1,8568		-202,5358		-8,8920		-0,8845	0,471	2,96
QC9		-3,949		2,0807		-209,2738		-8,9104		-0,9853	0,649	4,46
QC10	7,397	-3,949	0,273	3,8894	-0,005	-151,6564	-0,501	-9,1106	-0,733	-0,9933	0,9608	9,14
QC11		-3,949		2,6890		-200,8729		-8,6577		-0,9617	0,6291	4,26
QC12		-3,949		2,2266		-207,8881		-8,6579		-1,0517	0,6041	4,02
QC13		-3,918		3,4176		-152,5533		-9,2124		-1,0995	1,1947	15,7
QC14		-3,918		1,2120		-191,7244		-8,8310		-1,0443	0,5569	3,6
QC15		-3,918		1,4628		-203,0709		-9,0300		-0,9503	0,7129	5,16
QC17		-3,854		3,2063		-128,3908		-9,1191		-0,9751	1,3517	22,5

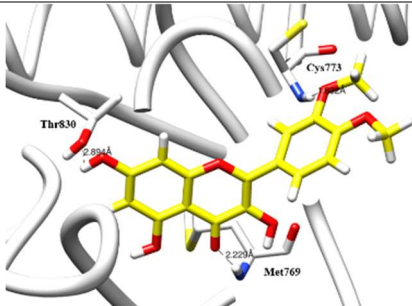
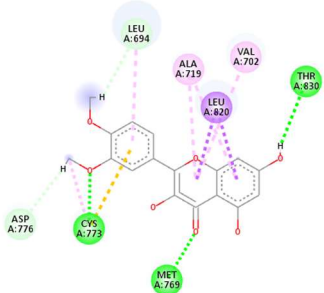
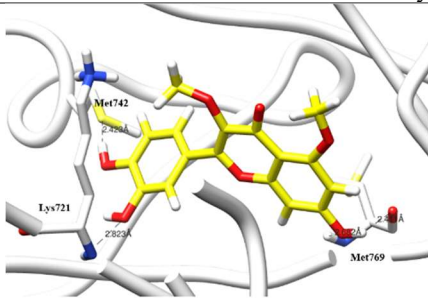
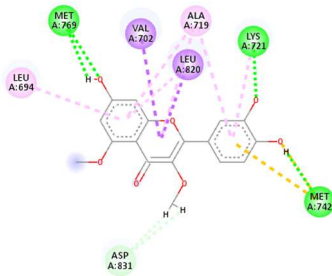
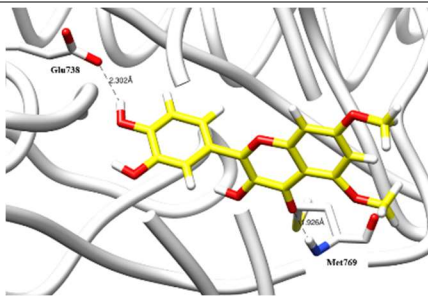
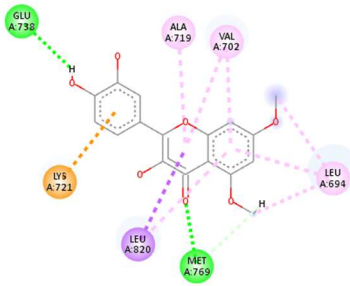
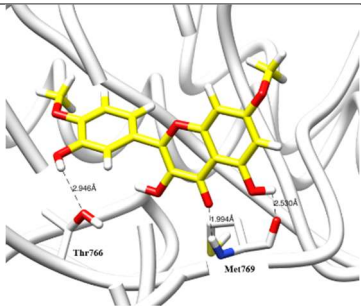
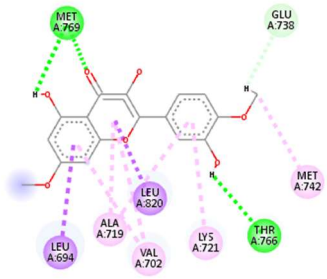
Keterangan: nilai LogIC₅₀ prediksi didasarkan pada model persamaan 18, sebagai berikut:

$$y = 23,059 + (7,397 \times \log P) + (0,273 \times \text{momen dipol}) - (0,005 \times \text{panas pembentukan}) - (0,501 \times E_{\text{HOMO}}) - (0,733 \times E_{\text{LUMO}})$$

Lampiran 11. Hasil penambatan molekul senyawa analog O-metil kuersetin

Senyawa	Afinitas (kkal/mol)	Ikatan Hidrogen		Interaksi Hidrofobik
		Residu	Jarak Ikatan	
QC1 (Kuersetin)	-47,2471	Met769 Lys721	2,384 Å 2,060 Å	Val702; Ala719; Leu694; Leu820; Cys751; Asp831
				
QC2 (Isorhamnetin)	-49,4612	Met769 Lys721 Glu738	2,530 Å 2,054 Å 2,772 Å	Val702; Ala719; Leu694; Phe699; Leu820; Cys751; Asp831
				
QC3 (Tamarixetin)	-46,4481	Met769	2,151 Å	Asp776; Val702; Ala719; Leu820; Cys773; Asp831
				
QC4 (3-O-methylquercetin)	-47,7951	Met769	2,364 Å	Gln767; Val702; Ala719; Leu820; Lys721; Leu694
				

Senyawa	Afinitas (kcal/mol)	Ikatan Hidrogen		Interaksi Hidrofobik
		Residu	Jarak Ikatan	
QC5 (Azaleatin)	-50,3710	Met769 Lys721 Glu738	2,336 Å 2,049 Å 2,753 Å	Pro770; Val702; Ala719; Leu694; Leu768; Leu820; Cys751; Asp831
				
QC6 (Rhamnetin)	-55,9166	Met769 Met742 Glu738	1,949 Å 2,971 Å 2,285 Å	Val702; Ala719; Leu694; Leu820; Lys721
				
QC7 (5,3'-O-dimethylquercetin)	-52,2422	Met769 Glu738	1,930 Å 2,228 Å	Ala719; Leu764; Thr766; Val702; Leu694; Leu768; Leu820; Lys721
				
QC8 (3,7-O-dimethylquercetin)	-52,1676	Met769 Leu694	2,190 Å 2,661 Å	Gly772; Thr830; Asp831; Val702; Ala719; Leu820
				

Senyawa	Afinitas (kcal/mol)	Ikatan Hidrogen		Interaksi Hidrofobik
		Residu	Jarak Ikatan	
QC9 (Dillenetin)	-47,2924	Met769 Cys773 Thr830	2,229 Å 1,832 Å 2,894 Å	Asp776; Leu694; Val702; Ala719; Leu820
				
QC10 (3,5-O-dimethylquercetin)	-56,4201	Met769 Met742 Lys721	2,411 Å 2,429 Å 2,823 Å	Asp831; Ala719; Leu694; Val702; Leu820
				
QC11 (5,7-O-dimethylquercetin)	-58,3107	Met769 Glu738	1,926 Å 2,302 Å	Leu694; Ala719; Val702; Ala719; Leu820; Lys721
				
QC12 (Ombuin)	-55,9269	Met769 Thr766	1,994 Å 2,946 Å	Glu738; Val702; Ala719; Lys721; Met742; Leu694; Leu820
				

Senyawa	Afinitas (kcal/mol)	Ikatan Hidrogen		Interaksi Hidrofobik
		Residu	Jarak Ikatan	
QC13 (Ayanin)	-51,7179	Met769 Lys721	2,920 Å 1,921 Å	Thr830; Asp831; Glu738; Gln767; Leu694; Val702; Ala719; Cys773; Leu820
QC14 (Quercetin 5,3',4'-trimethyl ether)	-59,5984	Met769	2,080 Å	Ala719; Glu738; Leu764; Thr766; Pro770; Leu694; Val702; Lys721; Met742; Leu820
QC15 (Quercetin 7,3',4'-trimethyl ether)	-58,5563	Met769	2,014 Å	Ala719; Glu738; Leu764; Thr766; Val702; Lys721; Met742; Leu820
QC17 (Quercetin 3,5,7,3',4'-pentamethyl ether)	-56,0450	Met769 Lys721	2,276 Å 1,966 Å	Glu738; Gln767; Pro770; Thr830; Asp831; Leu694; Phe699; Val702; Ala719; Leu820

