

DISERTASI

**MODIFIKASI STRUKTUR N-(ALILKARBAMOTIOIL)BENZAMIDA
DAN HUBUNGAN KUANTITATIF STRUKTUR-AKTIVITAS
SITOTOKSIKNYA PADA SEL KANKER PAYUDARA MCF-7/HER-2**



TRI WIDIANDANI

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2017**

DISERTASI

**MODIFIKASI STRUKTUR N-(ALILKARBAMOTIOIL)BENZAMIDA
DAN HUBUNGAN KUANTITATIF STRUKTUR-AKTIVITAS
SITOTOKSIKNYA PADA SEL KANKER PAYUDARA MCF-7/HER-2**



TRI WIDIANDANI

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2017**

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini, peserta Program Studi Doktor Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga:

Nama : Tri Widiandani, Apt., S.Si., Sp.FRS

NIM : 05137097308

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Naskah Disertasi yang saya tulis dengan judul:

Modifikasi Struktur N-(Alilkarbamotioil)benzamida dan Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas Sitotoksiknya Pada Sel Kanker Payudara MCF-7/HER-2

adalah benar-benar merupakan konsep pemikiran dan hasil karya ilmiah saya sendiri. Apabila di kemudian hari diketahui bahwa isi Naskah Disertasi ini merupakan hasil plagiat, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan perundang-undangan.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 24 April 2017

Yang membuat pernyataan,



Tri Widiandani, Apt., S.Si., Sp.FRS

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini, peserta Program Studi Doktor Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga:

Nama : Tri Widiandani, Apt., S.Si., Sp.FRS

NIM : 05137097308

Menyatakan bahwa demi kepentingan perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui Naskah Disertasi yang saya tulis dengan judul:

Modifikasi Struktur *N*-(Alilkarbamotioil)benzamida dan Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas Sitotoksiknya Pada Sel Kanker Payudara MCF-7/HER-2

untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet portal Garuda atau media lain yaitu Digital Library Perpustakaan Universitas Airlangga untuk kepentingan akademik, sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian surat pernyataan ini saya buat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 24 April 2017

Yang membuat pernyataan,



Tri Widiandani, Apt., S.Si., Sp.FRS

**MODIFIKASI STRUKTUR *N*-(ALILKARBAMOTIOIL)BENZAMIDA
DAN HUBUNGAN KUANTITATIF STRUKTUR-AKTIVITAS
SITOTOKSIKNYA PADA SEL KANKER PAYUDARA MCF-7/HER-2**

DISERTASI

**Untuk memperoleh Gelar Doktor
dalam Program Studi Doktor Ilmu Farmasi
pada Fakultas Farmasi Universitas Airlangga**

Oleh:

**TRI WIDIANDANI
NIM. 051317097308**

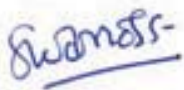
**PROGRAM STUDI DOKTOR ILMU FARMASI
FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2017**

LEMBAR PENGESAHAN

**DISERTASI INI TELAH DISETUJUI
PADA TANGGAL 14 JULI 2017**

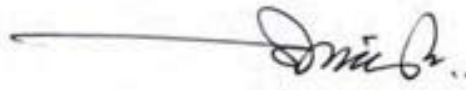
Oleh:

Promotor,



**Prof. Dr. Siswandono, Apt., M.S.
NIP. 19521002 198002 1 001**

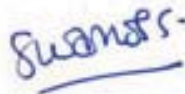
Ko-promotor,



**Prof. Dr. Edy Meiyanto, Apt., M.Si.
NIP. 19620502 198903 1 006**

Mengetahui :

Ketua Program Studi Doktor Ilmu Farmasi,



**Prof. Dr. Siswandono, Apt., M.S.
NIP. 19521002 198002 1 001**

**Disertasi ini telah diuji pada Ujian Disertasi Tertutup
Tanggal 14 Juni 2017**

PANITIA PENGUJI DISERTASI

- Ketua : Prof. Dr. Achmad Syahrani, M.S., Apt.**
- Anggota :**
- 1. Prof. Dr. Siswandono, M.S., Apt.**
 - 2. Prof. Dr. Edy Meiyanto, M.Si., Apt.**
 - 3. Junaidi Khotib, S.Si., M.Kes., Ph.D., Apt.**
 - 4. Hadi Poerwono, M.Sc., Ph.D., Apt.**
 - 5. Dr. Suko Hardjono, M.S., Apt.**
 - 6. Dr. Bambang Tri Purwanto, M.S., Apt.**
 - 7. Dr. Fahimah Martak, M.Si.**

**Ditetapkan dengan Surat Keputusan
Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
Nomor: 94/UN3.1.5/2017
Tanggal: 14 Juni 2017**

**Disertasi ini telah diuji pada Ujian Disertasi Terbuka
Tanggal 14 Juli 2017**

PANITIA PENGUJI DISERTASI

- Ketua : Dr. Umi Athiyah, M.S., Apt.**
- Anggota :**
- 1. Prof. Dr. Siswandono, M.S., Apt.**
 - 2. Prof. Dr. Edy Meiyanto, M.Si., Apt.**
 - 3. Prof. Dr. Achmad Sjahrani, M.S., Apt.**
 - 4. Prof. Dr. Muhamad Zainudin, Apt.**
 - 5. Prof. Dr. Purwanto, Apt.**
 - 6. Dr. Purwo Sri Rejeki, dr., M.Kes**
 - 7. Dr. Achmad Rizki Sridadi, S.H., M.M., M.H.**
 - 8. Dr. Marcellino Rudyanto, M.Si., Apt.**
 - 9. Dr. Riesta Prima Harinastiti, S.Si., M.Si., Apt.**

**Ditetapkan dengan Surat Keputusan
Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
Nomor: 106/UN3.1.5/2017
Tanggal: 14 Juli 2017**

UCAPAN TERIMA KASIH

Assalamu'alaikum warohmatullahi wabarokatuh.

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT atas segala bimbingan dan kasih sayangNya kepada penulis dan keluarga, karena hanya dengan ridhoNya penulis telah dapat menyelesaikan disertasi ini. Disertasi ini merupakan akhir proses pendidikan S3 di Program Studi Ilmu Farmasi Universitas Airlangga. Dengan selesainya disertasi ini, berkenaan penulis menyampaikan terima kasih yang tak terhingga kepada:

Prof. Dr. Siswandono, Apt., M.S., selaku promotor, yang dengan tulus dan penuh kesabaran serta perhatian telah banyak memberikan bimbingan, wawasan, arahan, saran, nasehat, koreksi, dorongan semangat dan segenap ilmunya yang sangat bermanfaat kepada penulis, sejak penulis mulai mengikuti pendidikan S3 sampai dengan selesainya penyusunan naskah disertasi ini. Banyak pelajaran berharga yang penulis dapatkan dari beliau, terutama tentang ketekunan dan kesabaran dalam menghadapi setiap permasalahan.

Prof. Dr. Edy Meiyanto, Apt., M.Si, selaku ko-promotor, yang dengan segala kebbaikannya, dengan tulus dan penuh kesabaran telah memberikan bimbingan, wawasan, arahan, saran, nasehat, koreksi, dan dorongan semangat agar penulis dapat segera menyelesaikan pendidikan S3. Dari beliau penulis banyak dibukakan jalan mengenal lebih luas kehidupan akademis dan non-akademis, mendapatkan pengalaman sekaligus pelajaran tentang arti kekeluargaan, ketekunan, kedisiplinan dan keharusan untuk membuat rencana dan melaksanakan rencana tersebut dengan baik.

Pemerintah Republik Indonesia cq. Kementerian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi (Ristekdikti), yang telah memberikan dana hibah melalui program PKPI (*Sandwich-Like*) untuk melaksanakan Internship Penelitian di NAIST Jepang dan biaya penyelesaian disertasi melalui hibah Penelitian Disertasi Doktor (PDD). Demikian pula kepada Kementerian Kesehatan (Kemenkes) yang telah memberikan hibah melalui program Risbin Iptekdok kepada penulis, sehingga dengan semua program tersebut telah membantu penulis menyelesaikan pendidikan S3 di Universitas Airlangga.

Rektor Universitas Airlangga (2006-2015), Prof. Dr. Fasich, Apt., yang telah memberikan ijin dan menerima penulis sebagai mahasiswa pendidikan S3, dan Rektor Universitas Airlangga (2015-2020), Prof. Dr. H. Mohammad Nasih, MT., SE., Ak., CMA. yang juga telah memberikan kesempatan kepada penulis menyelesaikan pendidikan S3 di Universitas Airlangga.

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Dr. Umi Athiyah, Apt., M.S., dan para Wakil Dekan yang telah memberikan ijin dan kesempatan kepada penulis untuk menyelesaikan pendidikan S3. Telah memberikan bantuan SOP pendidikan S3 serta hibah Dosen Pemula, sehingga membantu penulis melaksanakan pendidikan S3 di Universitas Airlangga.

Ketua Program Studi Doktor Ilmu Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Prof. Dr. Siswandono, Apt., M.S. yang telah memberikan kesempatan dan kemudahan untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan S3.

Ketua Departemen Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Marcellino Rudyanto, Apt., M.Si., Ph.D., atas dukungan dan ijin yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan S3, dan atas kebijaksanaannya mengijinkan penulis untuk bebas tugas dari amanah Sekretaris Departemen Kimia Farmasi mendampingi beliau hingga akhir jabatan 2010-2015, demi pengembangan sumber daya di Departemen.

Dosen Pembina Mata Kuliah pada Program Studi S3 Ilmu Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga: Prof. Dr. Siswandono, M.S., Apt.; Prof. Dr. Purwanto., Apt.; Prof. Dr. Muhamad Zainuddin, Apt.; Prof. Dr. Tutuk Budiati, Spt.; Dr. Umi Athiyah, Apt., M.S.; Marcellino Rudyanto, Apt., M.Si., Ph.D; Hadi Poerwono, Apt., M.Sc., Ph.D atas ilmu, wawasan, inspirasi dan motivasi yang diberikan selama penulis menempuh pendidikan S3.

Para penguji ujian kualifikasi, ujian proposal, ujian kelayakan sampai dengan Ujian Disertasi Tahap I yang terdiri dari: Prof. Dr. Siswandono, Apt., MS; Prof. Dr. Edy Meiyanto, Apt., M.Si.; Prof. Dr. Achmad Syahrani, Apt., M.S; Prof. Dr. Djoko Agus Purwanto, Apt., M.Si; Dr. Suko Hardjono, Apt., M.S.; Dr. Bambang Tri Purwanto, Apt., M.S.; Hadi Poerwono, Apt., M.Sc, Ph.D; Marcellino Rudyanto, Apt, M.Si, Ph.D; Junaidi Khotib, Apt., S.Si., M.Kes, Ph.D; Dr. Fahimah Martak, M.Si, yang telah memberikan masukan, koreksi, motivasi selama penulis mengikuti ujian dan menempuh pendidikan S3.

Prof. Yasumasha Bessho, Guru Besar laboratorium Gen Regulation, BioScience, Nara Institute of Science and Technology (NAIST), Jepang, Supervisor utama penulis yang dengan segala kerendahan hati dan kebijaksanaannya telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk melakukan penelitian tentang kanker di lab BioScience dengan segala fasilitas yang disediakan, serta telah memberikan kesempatan turut merasakan atmosfer akademik di NAIST. Dr. Norihiro Ishida-Kitagawa, *Assistant Professor*, mentor penulis yang dengan totalitasnya dan tanpa mengenal waktu telah membimbing, memberikan masukan dan mengarahkan penulis dalam melaksanakan penelitian di NAIST Jepang, hingga penulis mendapatkan pengalaman penelitian sekaligus memperoleh hasil yang baik.

Bapak Ibu Peer Group Kimia Medisinal Fakultas Farmasi Universitas Airlangga: Prof. Dr. Siswandono, Apt., M.S.; Prof. Dr. Purwanto, Apt.; Dr. Suko Hardjono, Apt., MS; Dr. Bambang Tri Purwanto, Apt., M.S.; Drs. Robby Sondakh, Apt., M.S. (purna tugas); Ir. Rully Susilowati, M.Si (purna tugas) dan Dr. Nuzul Wahyuning Diyah, Apt., M.Si., atas pengertian, kesempatan, dorongan semangat dan masukan yang diberikan kepada penulis untuk melaksanakan dan menyelesaikan pendidikan S3.

Prof. Supargiyono, DTM&H., S.U., Sp.Par (K) dari bagian Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, yang telah memberi ijin penulis untuk belajar dan menggunakan fasilitas laboratorium untuk uji aktivitas sitotoksik.

Melanny Ika Sulistyowaty, Apt., S.Farm., M.Sc., yang telah membantu penulis dalam menganalisa spektra hasil penelitian di Hiroshima University, Jepang. Dr. Juni Ekowati, Apt., M.Si., Lusiana Arifianti, Apt., M.Si dan Kholis Amalia N, Apt., S.Farm., M.Sc, yang telah membatu dan memberikan semangat agar penulis segera menyelesaikan pendidikan S3.

Teman-teman seperjuangan dalam menempuh S3: Dra. Suzana, Apt., M.Si; Dr. Roihatul Muthi'ah, Apt., S.F., M.Kes; Drs. Sahad Saragih, Apt., M.Si; Yudi Wicaksono, Apt., S.Si., M.Si; Nuri, Apt., S.Si., M.Si; Agriana RH, Apt., S.Farm., M.Si; Endang Susilowati, M.Kes; dan Dr. Misgiati, M.Pd atas kebersamaan dalam suka dan duka selama menempuh pendidikan S3.

Teman-teman Cancer Chemoprevention Research Center (CCRC) UGM di bawah pimpinan Prof. Edy Meiyanto, Apt., M.Si: Dr. Riris Istighfari Jenie, Apt., M.Si; Herwandhani Putri, Apt., M.Si; Dyaningtyas Dewi Pamungkas Putri, Apt., M.Sc.; Yonika Arum Larasati, Apt., M.Sc; Rohmad Yudi Utomo, Apt., S.Farm; Beni Lestari, Apt., S.Farm; Sri Handayani, Apt., M.Si., Serta teman-teman NAISTer Nara-Jepang yang telah memberikan semangat dan bantuan kepada penulis dalam bekerja di laboratorium dan menyelesaikan pendidikan S3.

Pak Tukidjo, Pak Sutanto, Pak Angga, Pak Kushoiri, Pak Yanto, Bu Rumbi, para tenaga kependidikan dan analis laboratorium yang telah banyak membantu penulis secara teknis dalam melaksanakan penelitian.

Kedua orang tua, Bapak H. Ibnu Chotob, MBA dan Ibu Hj. Zulaiha yang telah membesarkan, mendidik dan memberikan cinta dan suri tauladan kepada penulis. Memberikan dukungan moral dan materiil yang tak terbilang serta doa yang tulus kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan pendidikan S3.

Kedua mertua, almarhum Bapak H. Moh. Thamrin, S.Pd dan almarhumah Ibu Hj. Hidayati., Apt., M.Psi. Semoga beliau berdua mendapat tempat terbaik disisi Allah SWT.

Kakak tercinta, Adam Bashori, S.E., beserta istri Novie Nurul Azmi; Eva Dwi Laksmi, S.E., beserta suami Hadi Setiawan, S.E., yang telah banyak memberikan motivasi dan inspirasi kepada penulis. Kakak-kakak Ipar, Dr. Ahmad Rizky Sridadi, M.M., M.H., beserta istri Dyah Anggaeni, S.H., M.H., dan Adam Wirahadi, SE, SH., beserta istri Alamanda Sembiring. Serta keponakan tersayang M. Fauzan Razzani; Tarisha Nayla Azzahr, Tania Azkira, Fathan Firdaus Nuzulan, Muhammad Fakhri Fakhri, Dimas Adila Razan, Azkia Dian Arini dan Aqila Yasmin Danisa. Terima kasih atas segala doa dan semangat yang diberikan kepada penulis selama menjalani pendidikan S3.

Suami tercinta Darajatun Nugrahadhi, ST yang dengan setia mendampingi dalam suka dan duka, yang dengan penuh pengertian, kesabaran selalu memberikan dukungan, senantiasa mengingatkan untuk senantiasa bersyukur, menjaga niat dan semangat agar penulis terus belajar dan berkarya.

Anak-anak tercinta, Muhammad Fatih Rabbani; Laila Fadhilah Rabbani dan Faiz Ihsan Rabbani, penyejuk mata dan hati penulis. Sumber semangat, motivasi dan energi yang luar biasa dan menjadi sumber kekuatan lahir batin bagi penulis untuk menyelesaikan pendidikan S3.

Semua pihak, sahabat, teman dan kerabat yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah banyak membantu selama penulis menempuh pendidikan S3.

Tak ada gading yang tak retak, oleh karena itu penulis berharap untuk mendapatkan masukan dan saran yang konstruktif dari semua pihak untuk kesempurnaan disertasi ini. *Laa hawla wala duwwata illa billah*. Kesempurnaan hanya milik Allah SWT. Semoga disertasi ini bermanfaat bagi kita semua, terutama dalam bidang kesehatan, pendidikan dan penelitian.

Fabiayyi 'aalaa'i Robbikumaa Tukadzdzibaan (Ar- Rahman)

Maka nikmat Tuhan kamu yang manakah yang kamu dustakan?

Wassalamu'alaikum warohmatullahi wabarokatuh.

Surabaya, Juni 2017

Penulis.

RINGKASAN

Modifikasi Struktur *N*-(Alilkarbamotioil)benzamida dan Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas Sitotoksiknya Pada Sel Kanker Payudara MCF-7/HER-2*Tri Widiandani*

Kanker payudara menjadi salah satu penyebab kematian terbesar bagi kaum wanita diseluruh dunia. Pada kasus tersebut, 30% kejadian disebabkan oleh ekspresi berlebih protein HER-2 dengan prognosis yang tidak baik. Pada penelitian ini dikembangkan senyawa turunan *N*-(alilkarbamotioil)benzamida melalui reaksi asilasi pada gugus NH_2 dari aliltiourea terhadap benzoil klorida dan turunannya. Senyawa *N*-(alilkarbamotioil)benzamida dan turunannya tersebut mengandung gugus farmakofor tiourea yang diperlukan untuk aktivitas sitotoksik. Dibanding hidroksiurea, obat antikanker yang secara klinis telah digunakan, turunan ini memiliki sifat kimia fisika yang lebih baik. Hidroksiurea mempunyai nilai $\text{ClogP} = -1.8$, $E_{\text{tot}} = -43.39$ dan $\text{CMR} = 1.57$; aliltiourea mempunyai nilai $\text{ClogP} = 0.08$, $E_{\text{tot}} = -78.41$ dan $\text{CMR} = 3.63$; sedang *N*-(alilkarbamotioil)benzamida mempunyai nilai $\text{ClogP} = 2.04$, $E_{\text{tot}} = -34.74$ dan $\text{CMR} = 6.64$.

Perubahan struktur kimia suatu senyawa akan menyebabkan perubahan sifat kimia fisika yaitu: sifat lipofilik, elektronik dan sterik. Sifat lipofilik diwakili oleh ClogP terutama mempengaruhi kemampuan senyawa dalam menembus membran biologis, sifat elektronik diwakili oleh E_{tot} terutama mempengaruhi proses interaksi obat dengan reseptor dan juga mempengaruhi penembusan membran biologis. Sifat sterik diwakili oleh CMR (*molar refractivity coefficient*) untuk menentukan keserasian interaksi molekul senyawa dengan reseptor.

Pada penelitian ini, senyawa induk dibuat dengan mereaksikan aliltiourea dengan benzoil klorida yang akan membentuk senyawa baru *N*-(alilkarbamotioil)benzamida. Kemudian dibuat dua belas (12) senyawa turunannya dengan substituen pada posisi yang berbeda pada inti benzena *N*-(alilkarbamotioil)benzamida. Gugus-gugus dan posisi tersebut yaitu: (1) gugus $-\text{Cl}$ pada posisi *para*; (2) gugus $-\text{Cl}$ pada posisi *ortho*; (3) gugus $-\text{Cl}$ pada posisi *meta*; (4) dua gugus $-\text{Cl}$ pada posisi *ortho* dan *para*; (5) dua gugus $-\text{Cl}$ pada posisi *meta* dan *para*. Gugus $-\text{Cl}$ mempunyai sifat lipofilik sehingga diharapkan lebih mudah menembus dinding sel. Demikian pula dengan sifat elektroniknya yang akan memperkuat ikatan senyawa dengan reseptor; (6) gugus $-\text{Br}$ pada posisi *para*, gugus ini memiliki sifat lipofilik sehingga diharapkan akan meningkatkan penembusan dinding sel. Gugus $-\text{Br}$ memiliki sifat penarik elektron yang setara dibanding $-\text{Cl}$; (7) gugus $-\text{F}$ pada posisi *para*. Gugus ini merupakan penarik elektron yang lebih rendah dibanding gugus $-\text{Cl}$ dan juga mempunyai sifat lipofilik yang lebih rendah dibanding gugus $-\text{Cl}$; (8) gugus $-\text{CH}_3$ pada posisi *para*, penambahan gugus ini diharapkan akan terjadi peningkatan penembusan membran karena $-\text{CH}_3$ memiliki sifat lipofilik dan merupakan gugus pendorong elektron yang dapat mempengaruhi kekuatan ikatan obat-reseptor; (9) gugus $-\text{OCH}_3$ pada posisi *para*. Gugus ini memiliki sifat lipofilik yang rendah dan merupakan pendorong elektron yang besar; (10) gugus $-4-t-\text{C}_4\text{H}_9$. Gugus ini memiliki sifat lipofilik tinggi dan merupakan gugus pendorong elektron yang sedikit lebih tinggi dibanding gugus metil; (11) gugus $-\text{NO}_2$ pada posisi *para*. Gugus ini menyebabkan penembusan membran sel tidak terlalu besar karena memiliki sifat lipofilik yang rendah dan merupakan penarik elektron yang sangat tinggi; (12) gugus $-\text{CF}_3$ pada posisi *para*. Gugus $-\text{CF}_3$ ini memiliki sifat lipofilik yang besar dan juga memiliki sifat penarik elektron yang cukup tinggi. Penambahan gugus-gugus pada inti benzena pada *N*-

(alilkarbamotioil)benzamida akan menyebabkan perubahan sifat lipofilik, elektronik serta sterik, sehingga diharapkan aktivitas biologisnya akan meningkat.

Untuk memprediksi aktivitas senyawa yang akan disintesis dilakukan *docking* secara komputasi dengan menggunakan program *Molegro Virtual Docker*. Uji *in silico* antara *N*-(alilkarbamotioil)benzamida dan turunannya menggunakan *human growth factor receptor-2* (HER-2) kode pdb. 3PP0, yang mengandung ligan standar SYR127063. Selanjutnya dibandingkan dengan hidroksiurea sebagai senyawa obat yang mengandung gugus urea dan lapatinib sebagai obat antikanker payudara yang telah digunakan secara klinis. Perhitungan energi ikatan yang diperoleh dari penelitian pendahuluan yang ditunjukkan oleh *rerank score* (RS) didapatkan bahwa RS hidroksiurea = -35.5542, RS aliltiurea = -53.2035, RS *N*-(alilkarbamotioil)benzamida = -93.3816 dan RS lapatinib = -154.6920. Makin kecil harga energi ikatan menunjukkan bahwa ikatan yang dihasilkan semakin stabil, sehingga diprediksi aktivitasnya juga semakin besar. Dari uji *in silico* diketahui bahwa senyawa *N*-(alilkarbamotioil)benzamida diprediksi memiliki aktivitas sitotoksik yang lebih besar dibanding senyawa awal aliltiurea dan senyawa pembanding hidroksiurea. Dengan demikian senyawa *N*-(alilkarbamotioil)benzamida layak untuk disintesis dan dikembangkan lebih lanjut sebagai senyawa induk.

Sintesis senyawa baru turunan *N*-(alilkarbamotioil)benzamida dilakukan melalui reaksi asilasi benzoil klorida terhadap aliltiurea berdasarkan reaksi *Schotten Baumann* yang dimodifikasi. Aliltiurea memiliki dua gugus nukleofil, yaitu amina primer (-NH₂) dan amina sekunder (-NH-) yang kemungkinan dapat menyerang atom C yang bermuatan positif pada gugus -C=O pada turunan benzoil klorida. Atom N pada amina primer (pK_a=15.2) lebih bersifat nukleofilik dibanding amina sekunder (pK_a=14.8), sehingga atom N pada amina primer lebih mudah menyerang atau mensubstitusi benzoil klorida yang menghasilkan senyawa turunan *N*-(alilkarbamotioil)benzamida. Setelah diperoleh 12 (dua belas) senyawa hasil modifikasi, kemudian dilakukan uji kemurnian, identifikasi dan konfirmasi struktur senyawa turunan dengan spektrofotometer IR, spektrometer ¹H-NMR, ¹³C-NMR dan HRMS.

Uji aktivitas sitotoksik secara *in vitro* dilakukan dengan menggunakan metode MTT atau 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida pada sel line kanker payudara manusia MCF-7 dan MCF-7 yang teroverekspresi HER-2 (MCF-7/HER-2), serta diuji selektifitasnya terhadap sel normal Vero. Sebagai pembanding digunakan hidroksiurea yang memiliki kesamaan struktur adanya gugus urea dan lapatinib yaitu senyawa antikanker yang telah digunakan secara klinis untuk pengobatan kanker payudara dengan HER-2 positif. Selanjutnya dilakukan uji *western blot* untuk mengetahui pengaruh senyawa induk BATU terhadap ekspresi HER pada aktivitas sitotoksik.

Dari hasil uji aktivitas sitotoksik diketahui bahwa senyawa induk BATU dan 12 senyawa turunannya menunjukkan nilai IC₅₀ pada sel MCF-7 yang lebih kecil dibanding senyawa awal aliltiurea (IC₅₀ = 4305 µM) dan senyawa obat pembanding hidroksiurea (IC₅₀ = 2793 µM). Artinya senyawa BATU dan turunannya memiliki aktivitas sitotoksik pada sel MCF-7 lebih tinggi dibanding aliltiurea dan hidroksiurea. Namun jika dibanding dengan lapatinib (IC₅₀ = 160 µM) maka senyawa BATU dan turunannya memiliki nilai IC₅₀ yang lebih besar, artinya aktivitas sitotoksiknya masih lebih rendah dari lapatinib pada sel MCF-7. Demikian pula pada sel MCF-7/HER-2, senyawa induk BATU dan 12 senyawa turunannya, menunjukkan nilai IC₅₀ yang lebih kecil dibanding aliltiurea (IC₅₀ = 3171 µM) dan hidroksiurea (IC₅₀ = 2006 µM). Artinya senyawa BATU dan turunannya memiliki aktivitas sitotoksik pada sel MCF-7/HER-2 lebih tinggi dibanding aliltiurea dan hidroksiurea. Jika dibanding dengan lapatinib maka senyawa BATU-11 yaitu *N*-(alilkarbamotioil)-4-nitrobenzamida memiliki nilai IC₅₀ yang

mendekati nilai IC_{50} lapatinib, artinya aktivitas sitotoksik BATU-11 pada sel MCF-7/HER-2 tidak jauh berbeda dari lapatinib.

Dari hasil uji aktivitas sitotoksik ini juga menunjukkan bahwa kedua belas senyawa turunan BATU memiliki aktivitas sitotoksik yang lebih tinggi pada MCF-7/HER-2 dibanding sel MCF-7. Hal ini berarti senyawa BATU dan turunannya bekerja spesifik terhadap MCF-7 yang teroverekspresi oleh HER-2. Hal ini diperkuat dengan hasil uji selektivitas pada sel normal Vero yang menunjukkan senyawa BATU dan turunannya memiliki nilai selektifitas 10 kali hingga 8.990 kali bekerja lebih selektif pada sel kanker payudara MCF-7, dan 24 kali hingga 20.001 kali bekerja lebih selektif pada sel kanker payudara MCF-7/HER-2. Dengan demikian, senyawa BATU dan turunannya bersifat selektif pada target sel kanker atau tidak toksik pada jaringan normal.

Berdasarkan hasil analisis ekspresi protein HER-2 dengan menggunakan metode *western blot*, terbukti bahwa senyawa BATU bekerja dengan meningkatkan ekspresi HER-2 dan menginaktivasi faktor transkripsi NF- κ B dalam inti sel sehingga mengakibatkan ekspresi protein yang berperan dalam proliferasi sel menjadi terhambat.

Hasil uji *in silico* terhadap reseptor HER-2 (3PP0) dan uji *in vitro* dibuktikan dengan melihat hubungan antara keduanya. Diperoleh hasil hubungan yang linier antara uji *in silico* dan uji aktivitas sitotoksik *in vitro* menggunakan sel MCF-7/HER-2 ($r = 0.799$; $\text{sig.} = 0.001$; $S = 0.290$; $F = 10.263$).

Analisis hubungan kuantitatif struktur-aktivitas (HKSA) dilakukan untuk mengetahui parameter sifat kimia fisika senyawa yang berperan terhadap aktivitas sitotoksik yang bekerja melalui reseptor HER-2. Persamaan HKSA ditentukan melalui analisis regresi dengan program SPSS 19.0 untuk mengetahui hubungan antara parameter sifat kimia fisik (Clog P, t PSA, BM, CMR, E_{tot} dan *Rerank Score*) sebagai variabel bebas dengan parameter aktivitas antikanker ($\log 1/IC_{50}$ sitotoksik) sebagai variabel tergantungan. Berdasarkan persamaan HKSA yang diperoleh dari satu, dua dan tiga parameter, baik linier maupun non linier, dipilih satu persamaan terbaik untuk mendapatkan aktivitas optimal berdasarkan harga koefisien korelasi (r) dan signifikansinya (sig.). Persamaan terbaik yang terpilih adalah persamaan HKSA tiga parameter, yaitu: $\text{Log } 1/IC_{50} = -0.096 (\text{Clog P})^2 + 0.814 \text{ Clog P} + 0.014 t\text{PSA} - 0.007 E_{\text{tot}} - 4.642$ ($r = 0.891$; $F = 8.671$; $\text{sig.} = 0.004$; $n = 14$). Dari persamaan terpilih dapat dijelaskan bahwa yang berpengaruh terhadap aktivitas sitotoksik dari senyawa *N*-(alilkarbamotioil)benzamida dan turunannya adalah sifat lipofilik (Clog P dan t PSA) dan sifat elektronik (E_{tot}), dan sifat lipofilik lebih besar peranannya dibanding sifat elektronik.

Saran dari penelitian yang telah dilakukan adalah berdasarkan persamaan terbaik HKSA tersebut direkomendasi untuk disintesis dan dikembangkan lebih lanjut senyawa turunan *N*-(alilkarbamotioil)benzamida sebagai calon obat antikanker yang bekerja terhadap reseptor HER-2. Dan juga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang senyawa turunan *N*-(alilkarbamotioil)benzamida sebagai calon obat yang berpotensi sebagai terapi kombinasi untuk mengurangi terjadinya resistensi pada obat antikanker payudara dengan HER-2 positif.

SUMMARY

Structure Modification of *N*-(allylcarbamoithiyl)benzamide and Quantitative Structure-Cytotoxic Activity Relationship in MCF-7/HER-2 Breast Cancer Cells*Tri Widiandani*

Breast cancer becomes one of the biggest causes of death in women across the world. In this case, 30 percent events are caused by overexpression of HER-2 with less favorable prognosis. In this research, the derivatives of *N*-(allylcarbamoithiyl)benzamide through the acylation reaction in NH_2 group from allylthiourea on benzoyl chloride and its derivatives were developed. The compound *N*-(allylcarbamoithiyl)benzamide and its derivatives contain thiourea group as a pharmacophore that is needed for cytotoxic activity. Compared to hydroxyurea, an anti-cancer drug that has been used clinically, this derivative has better physico-chemical properties. Hydroxyurea has $\text{ClogP} = -1.8$, $E_{\text{tot}} = -43.39$ and $\text{CMR} = 1.57$; allylthiourea has $\text{ClogP} = 0.08$, $E_{\text{tot}} = -78.41$ and $\text{CMR} = 3.63$; whereas *N*-(allylcarbamoithiyl)benzamide has $\text{ClogP} = 2.04$, $E_{\text{tot}} = -34.74$ and $\text{CMR} = 6.64$.

Modification in the chemical structure will cause a change in the physico-chemical properties, namely: lipophilic, electronic and steric properties. Lipophilic property is represented by ClogP , which especially influences the ability of the compound in penetrating biological membrane; electronic property is represented by E_{tot} , which especially influences the process of interaction between the drug and the receptor and influences the compound in penetrating biological membrane; steric property is represented by MR (molar refractivity coefficient), which determines the interaction congeniality between the compound molecules and the receptor.

In this research, the parent compound was made by reacting the allylthiourea with benzoyl chloride, which would form a target compound *N*-(allylcarbamoithiyl)benzamide. Then, twelve (12) derivatives with substituents or groups in different positions in the benzene core of *N*-(allylcarbamoithiyl)benzamide were made. The groups and the positions are as follows: (1) $-\text{Cl}$ group in the *para* position; (2) $-\text{Cl}$ group in the *ortho* position; (3) $-\text{Cl}$ group in the *meta* position; (4) two $-\text{Cl}$ groups in the *ortho* and *para* positions; (5) two $-\text{Cl}$ groups in the *meta* and *para* positions. $-\text{Cl}$ group has the lipophilic property, thus it is expected to be able to penetrate the cell membrane more easily. Likewise, its electronic property will strengthen the bond between the compound and the receptor; (6) $-\text{Br}$ group in the *para* position. This cluster has a lipophilic property, thus it is expected to be able to improve the penetration of the cell membrane. Besides, $-\text{Br}$ group has electron withdrawal property comparable to $-\text{Cl}$ group; (7) $-\text{F}$ group in the *para* position. This group has lower electron withdrawal property compared to $-\text{Cl}$ group, and it has lower lipophilic property compared to $-\text{Cl}$ group; (8) $-\text{CH}_3$ group in the *para* position, which has the lipophilic property, and is an electron donor group that can influence the strength of the drug-receptor bond; (9) $-\text{OCH}_3$ group in the *para* position. This cluster has low lipophilic property, and is a large electron donor; (10) $-4\text{-}t\text{-C}_4\text{H}_9$ group. This group has a high lipophilic property and is an electron donor group that is a little higher than methyl group; (11) $-\text{NO}_2$ group in the *para* position. This group makes the penetration of the cell membrane less large due to its low lipophilic property, and this cluster is a very high electron acceptor; (12) $-\text{CF}_3$ group in the *para* position. This $-\text{CF}_3$ group has a huge lipophilic property and fairly high electron withdrawal property. The addition of groups into the benzene core of *N*-

(allylcarbamoithiyl)benzamide will increase the lipophilic, electronic and steric properties, and it is expected that its biological activity will improve as well.

To predict the activity of the compounds that will be synthesized, docking was carried out by computation using the Molegro Virtual Docker program. The *in silico* test between *N*-(allylcarbamoithiyl)benzamide and its derivatives used human growth factor receptor-2 (pdb. 3PP0) contained standard ligand, SYR127063. Then, it was compared to hydroxyurea that contained urea group and lapatinib as an anti-breast cancer having been used clinically. According to the computation of the bond energy obtained from the preliminary research, which is showed by rerank score (RS), it was found out that the hydroxyurea had RS = -35.5542, allylthiourea had RS = -53.2035, *N*-(allylcarbamoithiyl)benzamide had RS = -93.3816 and lapatinib had RS = -154.6920. Lower bond energy shows more stable bond resulted, so the activity is predicted to be larger as well. Based on the results of *in silico* test, it was figured out that the *N*-(allylcarbamoithiyl)benzamide is predicted to have bigger cytotoxic activity than the allylthiourea and hydroxyurea, so it is suitable to be synthesized and developed further as a lead compound.

The synthesis of the new derivatives of *N*-(allylcarbamoithiyl)benzamide was carried out through the acylation reaction of benzoyl chloride on the allylthiourea based on the modified Schotten Baumann reaction. Allylthiourea had two nucleophile groups, namely primary amine (-NH₂) and secondary amine (-NH), which possibly had the ability to attack C atom with a positive charge in the -C=O group in the derivatives of benzoyl chloride. The N atom in the primary amine (pKa = 15.2) had higher nucleophilic property compared to the secondary amine (pKa = 14.8), so the N atom in the primary amine could attack or substitute benzoyl chloride that produced the *N*-(allylcarbamoithiyl)benzamide derivatives more easily. After 12 (twelve) derivatives resulted from the modification were obtained, purity test, identification and confirmation of derivative structure were conducted using spectrometer IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR and HRMS.

The cytotoxic activity test was conducted using MTT methods or 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide in the human breast cancer line cell, MCF-7 and MCF-7/HER-2, and its selectivity was tested against the normal cell, Vero. Then, western blot test was conducted to figure out the expression of HER-2 in the parent compound.

According to the results of the cytotoxic activity, it was found out that the BATU and its 12 derivatives showed IC₅₀ value in the cell MCF-7 smaller than the starting compound, allylthiourea, (IC₅₀ = 4305 µM) and hydroxyurea (IC₅₀ = 2793 µM). This means that the BATU compound and its derivatives have cytotoxic activity in cell MCF-7 higher than that of allylthiourea and hydroxyurea. However, when being compared to the lapatinib (IC₅₀ = 160 µM), the BATU compound and its derivatives had higher IC₅₀ value, meaning that the cytotoxic activity was still lower than lapatinib in MCF-7 cell. Similarly, in the MCF-7/HER-2 cell, the BATU and its 12 derivative compounds showed lower IC₅₀ value compared to the allylthiourea (IC₅₀ = 3171 µM) and hydroxyurea (IC₅₀ = 2006 µM). This means that the BATU and its derivatives had cytotoxic activity in the MCF-7/HER-2 cell higher than that of allylthiourea and hydroxyurea. If it is compared to the lapatinib, the BATU-11 namely *N*-(allylcarbamoithiyl)-4-nitrobenzamide had IC₅₀ values in MCF-7/HER-2 is close to the IC₅₀ value of lapatinib.

According to the results of cytotoxic activity, it was found out that the twelve derivatives of BATU showed cytotoxic activity in MCF-7/HER-2 higher than that in MCF-7. This means that the compound BATU and its derivatives work specifically to MCF-7 which is overexpressed by HER-2.

From the results of the selectivity test on the normal cell, Vero, the BATU compound and its derivatives showed selectivity value 10 times to 8.990 times more selective in the MCF-7 cell and 24 times to 20.001 times more selective in the MCF-7/HER-2 cell. Thus, according to the results of selectivity test on Vero cell, it was figured out that the BATU and its derivatives is more selective in the cancer cell target or non-toxic in normal tissues.

Based on the results of the analysis of the expression of HER-2 using the western blot methods, it was proven that the BATU compound works by improving the expression of HER-2 and inactivating the transcription factor NF- κ B in the nucleus. Thus, the expression of proteins that play a role in cell proliferation becomes inhibited.

According to the relationship between *in silico* test on the receptor HER-2 (3PP0) and cytotoxic activity using MCF-7 and MCF-7/HER-2 cells, it was figured out that there is a linear correlation in the *in vitro* cytotoxic activity test using MCF-7/HER-2 cell with *r* value closer to one ($r = 0.799$; $\text{sig.} = 0.001$; $S = 0.290$; $F = 10.263$) compared to the cytotoxic activity test using MCF-7 cell ($r = 0.679$; $\text{sig.} = 0.008$; $S = 0.252$; $F = 21.0202$).

The analysis of quantitative structure-activity relationship was conducted to figure out the parameters of the physico-chemical properties of the compounds playing a role in the cytotoxic activity by working through the HER-2. The equation of the quantitative structure-activity relationship was determined through regression analysis using program SPSS 19.0 to figure out the relationship between the parameters of physico-chemical properties (ClogP, *t*PSA, BM, CMR, E_{tot} and Rerank Score) as the independent variables and the parameters of anti-cancer activity (cytotoxic $\log 1/IC_{50}$) as the dependent variables. Based on the quantitative structure-activity relationship equation obtained from one, two and three parameter(s), both linear and non-linear, the best equation was selected to get the optimum activity based on the correlation coefficient value (*r*) and significance value (*sig.*). The best equation selected was the three-parameter quantitative structure-activity relationship equation, namely $\text{Log } 1/IC_{50} = -0.096 (\text{ClogP})^2 + 0.814 \text{ ClogP} + 0.014 \text{ } t\text{PSA} - 0.007 E_{\text{tot}} - 4.642$ ($r = 0.891$; $F = 8.671$; $\text{sig.} = 0.004$; $n = 14$). According to the selected equation, it can be explained that the ones influencing the cytotoxic activity of the *N*-(allylcarbamoithiyl)benzamide and its derivatives are the lipophilic property (ClogP and *t*PSA) and the electronic property (E_{tot}), and the lipophilic property had bigger role than the electronic property.

The suggestion of the research having been conducted is that based on the best quantitative structure-activity relationship equation, it is recommended that the *N*-(allylcarbamoithiyl)benzamide derivatives are synthesized and developed further as a prospective anti-cancer drug that works on the HER-2 receptor. A further study on the *N*-(allylcarbamoithiyl)benzamide derivatives as a prospective drugs that has the potential to be used as the combined therapy for reducing the resistance toward anti-cancer drug for breast cancer with HER-2 overexpression should be conducted.

ABSTRACT

Structure Modification of *N*-(allylcarbamoithiyl)benzamide and Quantitative Structure-Cytotoxic Activity Relationship in MCF-7/HER-2 Breast Cancer Cells*Tri Widiandani*

Breast cancer with HER-2 overexpression is sensitive to drug targeting the receptor or its kinase activity, although anti-HER-2 therapies have improved patient outcome, but resistance ultimately occurs. In this present study, we investigated a modification of the chemical structure of allylthiourea in order to enhance the cytotoxicity effect on human breast cancer cell lines and its protein expression in HER-2.

The aims of this study are to modify allylthiourea and evaluate their activity by using *in silico* and *in vitro* method. The thirteen (13) compounds: *N*-(allylcarbamoithiyl)benzamide; *N*-(allylcarbamoithiyl)-4-chlorobenzamide; *N*-(allylcarbamoithiyl)-3-chlorobenzamide; *N*-(allylcarbamoithiyl)-2-chlorobenzamide; *N*-(allylcarbamoithiyl)-3,4-dichlorobenzamide; *N*-(allylcarbamoithiyl)-2,4-dichlorobenzamide; *N*-(allylcarbamoithiyl)-4-bromobenzamide *N*-(allylcarbamoithiyl)-4-fluorobenzamide *N*-(allylcarbamoithiyl)-4-methylbenzamide; *N*-(allylcarbamoithiyl)-4-methoxybenzamide; *N*-(allylcarbamoithiyl)-4-*tert*-butylbenzamide; *N*-(allylcarbamoithiyl)-4-nitrobenzamide; *N*-(allylcarbamoithiyl)-trifluoromethyl benzamide were synthesized by Schotten-Baumann reaction with benzoyl chloride derivatives. The structures of the compounds were confirmed by using IR, ¹H-NMR, ¹³C-NMR and MS spectroscopic methods.

The virtual screening was carried out through docking of the compounds into the binding site of human growth factor receptor (HER-2), with PBD code: 3PP0 to predict their's activity as anticancer. *In silico* study was performed by using MVD ver. 5.5. All the synthesized compounds have a smaller Rerank Score than lead compound and also a commercially available anticancer drug, hydroxyurea. The small RS value implied a molecular bond that was stable and predicted had high biological activity.

Biological evaluations were conducted on MCF-7 and MCF-7 cells with overexpressing HER-2 is using MTT assay and western blot. The result showed the BATU performed cytotoxicity effects on MCF-7/HER-2 cell line higher than on MCF-7 cell lines. In addition, all derivatives also performed cytotoxicity effects on MCF-7 and MCF-7/HER-2 higher than allylthiourea as a lead compound. This finding also confirmed that The *N*-(allylcarbamoithiyl)benzamides can effectively enhance the cytotoxicity effect against MCF-7/HER-2 through enhanced HER-2 expression and inhibition of NF-κB activation.

Based on the QSAR, it can be concluded that there is a linear relationship between *in silico* (RS) and *in vitro* cytotoxic activity against cell line MCF-7/HER-2. And as the best QSAR equation is an equation with three parameters: $\text{Log } 1/\text{IC}_{50} = -0.096 (\text{Clog } P)^2 + 0.814 \text{ Clog } P + 0.014 \text{ tPSA} - 0.007 \text{ E}_{\text{tot}} - 4.642$. From the selected equation can be explained that the effect on the cytotoxic activity of the *N*-(allylcarbamoithiyl)benzamide and its derivatives are lipophilic (Clog P and tPSA) and electronic (E_{tot}) properties.

Keywords: *N*-(allylcarbamoithiyl)benzamide derivatives, cytotoxicity, *in silico*, synthesis, MCF-7, HER-2, QSAR

DAFTAR ISI

	Halaman
Sampul Depan.....	i
Sampul Dalam	ii
Surat Pernyataan Bebas Plagiat.....	iii
Surat Pernyataan Kesiapan untuk Ditampilkan di Media <i>Online</i>	iv
Prasyarat memperoleh gelar Doktor.....	v
Lembar Pengesahan	vi
Penetapan Panitia Penguji sidang tertutup.....	vii
Penetapan Panitia Penguji sidang terbuka.....	viii
Ucapan Terima Kasih.....	ix
Ringkasan.....	xii
<i>Summary</i>	xv
<i>Abstract</i>	xviii
Daftar Isi.....	xix
Daftar Tabel	xxv
Daftar Gambar.....	xxvii
Daftar Lampiran.....	xxxi
Daftar Singkatan dan Lambang.....	xxxii
BAB 1 PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	9
1.3 Tujuan Penelitian	
1.3.1 Tujuan Umum.....	10
1.3.2 Tujuan Khusus.....	10
1.4 Manfaat Penelitian.....	
1.4.1 Manfaat Teoritis.....	11
1.4.2 Manfaat Praktis.....	11
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tinjauan tentang Modifikasi Struktur.....	12
2.2 Tinjauan tentang <i>Molegro Virtual Docker</i>	14
2.3 Tinjauan Sintesis.....	15
2.3.1 Analisis Retrosintesis <i>N</i> -(alilkarbamotioil)benzamida	15
2.3.2 Sintesis Turunan <i>N</i> -(alilkarbamotioil)benzamida	16
2.3.3 Mekanisme Reaksi.....	18
2.3.3.1 Reaksi Asilasi Substitusi Nukleofilik..	18
2.3.3.2 Mekanisme Reaksi Pembentukan <i>N</i> -(alilkarbamotioil)benzamida	18
2.4 Tinjauan Uji Kemurnian dan Konfirmasi Struktur Senyawa	19
2.4.1 Uji Kemurnian Senyawa.....	19
2.4.1.1 Penentuan Titik Lebur.....	19
2.4.1.2 Kromatografi Lapis Tipis.....	20
2.4.2 Konfirmasi Struktur.....	21
2.4.2.1 Spektroskopi Infra Merah.....	21
2.4.2.2 Spektroskopi ¹ H-NMR.....	22
2.4.2.3 Spektroskopi ¹³ C-NMR.....	22
2.4.2.4 Spektrometri Massa	24

2.5	Tinjauan Kanker.....	24
2.5.1	Definisi Kanker.....	24
2.5.2	Kanker Payudara.....	25
2.5.3	Reseptor <i>Epidermal Growth Factor</i>	27
2.5.4	Receptor <i>Human Epidermal Growth Factor</i> -2 (HER-2)	29
2.6	Tinjauan tentang Obat Kanker.....	30
2.6.1	Obat yang bekerja pada reseptor HER-2.....	30
2.6.2	Tinjauan Turunan Tiourea sebagai Antineoplastik.....	31
2.7	Tinjauan tentang Sel MCF-7 dan MCF-7/HER-2.....	32
2.8	Tinjauan tentang Metode MTT <i>assay</i>	33
2.9	Tinjauan tentang <i>Western Blot</i>	34
2.9	Tinjauan tentang Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas	35
Bab 3	KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1	Kerangka Konseptual.....	37
3.2	Hipotesis Penelitian.....	41
Bab 4	METODE PENELITIAN	43
4.1	Rancangan Penelitian.....	43
4.2	Definisi Kerangka Operasional.....	43
4.3	Rancangan Uji <i>In Silico</i>	44
4.3.1	Identifikasi Variabel Penelitian <i>In Silico</i>	45
4.3.2	Bahan dan Alat Penelitian <i>In silico</i>	45
4.3.2.1	Bahan Penelitian.....	45
4.3.2.2	Alat/Instrument Penelitian	45
4.3.3	Prosedur Kerja Uji <i>In Silico</i>	46
4.3.3.1	Pembuatan Struktur Senyawa.....	46
4.3.3.2	<i>Docking</i> dengan Menggunakan Molegro Virtual Docker.....	46
4.4	Rancangan Sintesis	47
4.4.1	Identifikasi Variabel Penelitian Sintesis.....	48
4.4.2	Bahan dan Alat Penelitian Sintesis.....	48
4.4.2.1	Bahan Penelitian	48
4.4.2.2	Alat/Instrumen Penelitian	49
4.4.3	Prosedur Sintesis.....	49
4.4.4	Uji Kualitatif Senyawa Hasi Sintesis.....	50
4.4.4.1	Pemeriksaan Organoleptis.....	50
4.4.5	Uji Kemurnian Senyawa Hasi Sintesis.....	50
4.4.5.1	Uji Kemurnian dengan Kromatografi Lapis Tipis.....	50
4.4.5.2	Uji Kemurnian dengan Pemeriksaan Jarak Lebur.....	51
4.4.6	Konfirmasi Struktur Senyawa Hasi Sintesis.....	51
4.4.6.1	Analisis Spektrofotometri IR.....	51
4.4.6.2	Analisis Spektrometri ¹ H-NMR dan ¹³ C-NMR.....	51
4.4.6.3	Analisis Spektrometri HRMS.....	52
4.5	Rancangan Uji Aktivitas Sitotoksik <i>In Vitro</i>	52
4.5.1	Identifikasi Variabel Penelitian <i>In Vitro</i>	53
4.5.2	Bahan dan Alat Penelitian Uji <i>In Vitro</i>	54

	4.5.2.1	Bahan Penelitian.....	54
	4.5.2.2	Alat/Instrumen Penelitian	55
4.5.3		Prosedur Uji Aktivitas Sitotoksik metode MTT <i>assay</i>	55
	4.5.3.1	Pembuatan Larutan Induk Senyawa Uji dan Pembanding.....	55
	4.5.3.2	Pembuatan Larutan Kerja senyawa Uji dan Pembanding	55
	4.5.3.3	Propagasi dan panen sel MCF-7 dan MCF-7/HER-2.....	56
	4.5.3.4	Pengelompokan Subjek Uji.....	56
4.5.4		Uji Sitotoksitas Metode MTT	57
4.6		Ekspresi protein HER-2 dengan metode <i>Western Blot</i>	58
4.7		Ekspresi p-65 (NF-kB) dengan metode <i>Immunofluorescence</i>	59
4.8		Analisis Statistik	59
	4.8.1	Korelasi Bivariat (<i>2-tailed</i>) antara Log 1/IC ₅₀ dengan parameter sifat kimia fisika.....	59
	4.8.2	Persamaan Regresi HKSA.....	60
4.9		Lokasi Penelitian.....	60
BAB 5		DATA DAN ANALISIS HASIL PENELITIAN	
5.1		Hasil Uji <i>In Silico</i> terhadap reseptor <i>human epidermal growth factor-2</i> (HER-2).....	61
	5.1.1	Pembuatan Struktur Senyawa	61
	5.1.2	Hasil Preparasi Protein dan Penentuan <i>Cavity</i>	62
	5.1.3	Hasil Doking.....	62
	5.1.4	Hasil Interaksi Ligan dan Asam Amino.....	64
	5.1.5	Penerapan Hukum Lima Lipinski Senyawa Turunan <i>N</i> -(alilkarbamotioil)benzamida.....	66
5.2		Hasil Sintesis Senyawa <i>N</i> -(Alilkarbamotioil)benzamida dan Turunannya.....	67
	5.2.1	Sintesis Senyawa <i>N</i> -(Alilkarbamotioil) benzamida dan Turunannya.....	67
	5.2.2	Uji Kemurnian Senyawa Hasil Sintesis.....	68
	5.2.2.1	Uji Kromatografi Lapis Tipis.....	68
	5.2.2.2	Uji Penentuan Titik Lebur.....	70
	5.2.3	Konfirmasi Struktur Senyawa.....	70
	5.2.4	Konfirmasi Struktur Senyawa BATU.....	71
	5.2.4.1	Analisis Spektrofotometri FT-IR	71
	5.2.4.2	Analisis spektroskopi ¹ H-NMR senyawa BATU.....	72
	5.2.4.3	Analisis spektroskopi ¹³ C-NMR senyawa BATU	74
	5.2.4.4	Analisis Spektrometri Masa.....	75
	5.2.5	Konfirmasi Struktur Senyawa BATU-01.....	76
	5.2.5.1	Analisis Spektrofotometri FT-IR	76
	5.2.5.2	Analisis Spektroskopi ¹ H-NMR.....	77
	5.2.5.3	Analisis Spektroskopi ¹³ C-NMR	78
	5.2.5.4	Analisis Spektrometri Masa.....	79
	5.2.6	Konfirmasi Struktur Senyawa BATU-02	80

	5.2.6.1	Analisis Spektrofotometri FT-IR.....	80
	5.2.6.2	Analisis Spektrometri ¹ H-NMR.....	81
	5.2.6.3	Analisis Spektrometri ¹³ C-NMR.....	82
	5.2.6.4	Analisis Spektrometri Masa.....	83
5.2.7		Konfirmasi Struktur Senyawa BATU-03	85
	5.2.7.1	Analisis Spektrofotometri FT-IR.....	85
	5.2.7.2	Analisis Spektrometri ¹ H-NMR.....	86
	5.2.7.3	Analisis Spektrometri ¹³ C-NMR.....	87
	5.2.7.4	Analisis Spektrometri Masa.....	88
5.2.8		Konfirmasi Struktur Senyawa BATU-04.....	89
	5.2.8.1	Analisis Spektrofotometri FT-IR.....	89
	5.2.8.2	Analisis Spektrometri ¹ H-NMR.....	90
	5.2.8.3	Analisis Spektrometri ¹³ C-NMR.....	91
	5.2.8.4	Analisis Spektrometri Masa.....	92
5.2.9		Konfirmasi Struktur Senyawa BATU-05	94
	5.2.9.1	Analisis Spektrofotometri FT-IR.....	94
	5.2.9.2	Analisis Spektrometri ¹ H-NMR.....	95
	5.2.9.3	Analisis Spektrometri ¹³ C-NMR.....	96
	5.2.9.4	Analisis Spektrometri Masa.....	97
5.2.10		Konfirmasi Struktur Senyawa BATU-06	98
	5.2.10.1	Analisis Spektrofotometri FT-IR.....	98
	5.2.10.2	Analisis Spektrometri ¹ H-NMR.....	99
	5.2.10.3	Analisis Spektrometri ¹³ C-NMR.....	100
	5.2.10.4	Analisis Spektrometri Masa.....	101
5.2.11		Konfirmasi Struktur Senyawa BATU-07.....	103
	5.2.11.1	Analisis Spektrofotometri FT-IR.....	103
	5.2.11.2	Analisis Spektrometri ¹ H-NMR.....	104
	5.2.11.3	Analisis Spektrometri ¹³ C-NMR.....	105
	5.2.11.4	Analisis Spektrometri Masa.....	106
5.2.12		Konfirmasi Struktur Senyawa BATU-08.....	107
	5.2.12.1	Analisis Spektrofotometri FT-IR.....	107
	5.2.12.2	Analisis Spektrometri ¹ H-NMR.....	108
	5.2.12.3	Analisis Spektrometri ¹³ C-NMR.....	109
	5.2.12.4	Analisis Spektrometri Masa.....	110
5.2.13		Konfirmasi Struktur Senyawa BATU-09.....	112
	5.2.13.1	Analisis Spektrofotometri FT-IR.....	112
	5.2.13.2	Analisis Spektrometri ¹ H-NMR.....	113
	5.2.13.3	Analisis Spektrometri ¹³ C-NMR.....	114
	5.2.13.4	Analisis Spektrometri Masa.....	115
5.2.14		Konfirmasi Struktur Senyawa BATU-10.....	116
	5.2.14.1	Analisis Spektrofotometri FT-IR.....	116
	5.2.14.2	Analisis Spektrometri ¹ H-NMR.....	117
	5.2.14.3	Analisis Spektrometri ¹³ C-NMR.....	118
	5.2.14.4	Analisis Spektrometri Masa.....	119
5.2.15		Konfirmasi Struktur Senyawa BATU-11	121
	5.2.15.1	Analisis Spektrofotometri FT-IR.....	121
	5.2.15.2	Analisis Spektrometri ¹ H-NMR.....	122
	5.2.15.3	Analisis Spektrometri ¹³ C-NMR.....	123
	5.2.15.4	Analisis Spektrometri Masa.....	124
5.2.16		Konfirmasi Struktur Senyawa BATU-12.....	125

	5.2.16.1	Analisis Spektrofotometri FT-IR.....	125
	5.2.16.2	Analisis Spektrometri ¹ H-NMR.....	126
	5.2.16.3	Analisis Spektrometri ¹³ C-NMR.....	127
	5.2.16.4	Analisis Spektrometri Masa.....	128
5.3		Uji Aktivitas <i>In Vitro</i>	130
5.3.1		Uji Aktivitas Sitotoksik <i>In Vitro</i> terhadap Sel MCF-7	130
5.3.2		Uji Aktivitas Sitotoksik <i>In Vitro</i> terhadap Sel MCF-7/HER-2	133
5.3.3		Uji Selektivitas Sitotoksik terhadap Sel Vero....	136
5.3.4		Ekspresi Protein HER-2 pada sel MCF-7/HER-2 dan sel MCF-7	137
5.3.5		Ekspresi p-65 (NF-kB) Senyawa BATU.....	139
5.4		Analisis Statistik Senyawa turunan BATU.....	140
5.4.1		Hubungan antara Uji <i>In silico</i> dan <i>In Vitro</i> Aktivitas Sitotoksik Senyawa turunan BATU...	140
5.4.2		Hubungan Kuantitatif Struktur Aktivitas (HKSA) Senyawa Turunan BATU.....	142
	5.4.2.1	Korelasi Bivariat antara Aktivitas Sitotoksik dengan Nilai Parameter Sifat Kimia Fisika.....	142
	5.4.2.2	Persamaan Regresi Hubungan Kuantitatif Struktur Aktivitas.....	143
BAB 6		PEMBAHASAN	
6.1		Modifikasi Struktur dan Uji <i>In Silico</i>	147
6.2		Sintesis Senyawa <i>N</i> -(alilkarbamotioil)benzamida dan Turunannya.....	153
6.2.1		Hasil Sintesis dan Uji Kemurnian.....	153
6.2.2		Konfirmasi Struktur Senyawa BATU dan Turunannya.....	154
	6.2.2.1	Senyawa BATU [<i>N</i> -(alilkarbamotioil)benzamida].....	154
	6.2.2.2	Senyawa BATU-01 [<i>N</i> -(alilkarbamotioil)-4-klorobenzamida]...	155
	6.2.2.3	Senyawa BATU-02 [<i>N</i> -(alilkarbamotioil)-3-klorobenzamida]...	156
	6.2.2.4	Senyawa BATU-03 [<i>N</i> -(alilkarbamotioil)-2-klorobenzamida]...	157
	6.2.2.5	Senyawa BATU-04 [<i>N</i> -(alilkarbamotioil)-3,4-diklorobenzamida].....	158
	6.2.2.6	Senyawa BATU-05 [<i>N</i> -(alilkarbamotioil)-2,4-diklorobenzamida].....	159
	6.2.2.7	Senyawa BATU-06 [<i>N</i> -(alilkarbamotioil)-4-bromobenzamida].	160
	6.2.2.8	Senyawa BATU-07 [<i>N</i> -(alilkarbamotioil)-4-fluorobenzamida].	162
	6.2.2.9	Senyawa BATU-08 [<i>N</i> -(alilkarbamotioil)-4-metilbenzamida]...	163

6.2.2.10	Senyawa BATU-09 [N-(alilkarbamotioil)-4-metoksibenzamida].....	164
6.2.2.11	Senyawa BATU-10 [N-(alilkarbamotioil)-4- <i>tert</i> -butilbenzamida].....	165
6.2.2.12	Senyawa BATU-11 [N-(alilkarbamotioil)-4-nitrobenzamida]	166
6.2.2.13	Senyawa BATU-12 [N-(alilkarbamotioil)-4-trifluorometilbenzamida].....	167
6.2.3	Uji Aktivitas <i>In Vitro</i>	168
6.2.3.1	Penentuan Aktivitas Sitotoksik Senyawa BATU dan Turunannya.....	168
6.2.3.2	Aktivitas Sitotoksik Senyawa BATU dan turunannya terhadap sel MCF-7.....	170
6.2.3.3	Aktivitas Sitotoksik Senyawa BATU dan turunannya terhadap sel MCF-7/HER-2.....	170
6.2.3.4	Aktivitas Sitotoksik Senyawa BATU dan turunannya terhadap sel normal Vero.....	171
6.2.3.5	Aktivitas Sitotoksik Senyawa BATU dan turunannya terhadap sel MCF-7 vs MCF-7/HER-2.....	172
6.2.3.6	Ekspresi Protein HER-2 dengan metode <i>Western Blot</i>	173
6.2.3.7	Inaktivasi p-65 (NF-kB) oleh senyawa BATU pada sel MCF-7/HER-2 dengan Metode <i>Nuclear Extraction</i>	174
6.2.3.8	Tantangan dan Peluang Senyawa BATU dan Turunannya sebagai calon terapi pendamping Obat kanker dengan target HER-2.....	174
6.4	Analisis Statistik.....	176
6.4.1	Hubungan antara Uji <i>In silico</i> dan <i>In Vitro</i> Aktivitas Sitotoksik	176
6.4.2	Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas Sitotoksik Senyawa BATU dan turunannya.....	177
6.4.2.1	Persamaan Regresi Hubungan Kuantitatif Struktur Aktivitas.....	178
BAB 7 PENUTUP		
7.1	Kesimpulan.....	182
7.2	Saran	183
Daftar Pustaka.....		184
Lampiran.....		191

DAFTAR TABEL

		Halaman
Tabel 2.1	Nilai tetapan substituen lipofilik (π) dan elektronik (σ) dan sterik (Es).....	14
Tabel 2.2	Perkiraan rentang pergeseran kimia (ppm) pada beberapa tipe proton.	22
Tabel 5.1	Hasil Perolehan Nilai Doking.....	63
Tabel 5.2	Asam-Asam amino dan ikatan kimia yang terlibat pada proses interaksi senyawa turunan BATU dengan reseptor HER-2 (3PP0).....	65
Tabel 5.3	Penerapan Hukum Lima Lipinski dari Senyawa Turunan <i>N</i> -(alilkarbamotioil)benzamida.....	66
Tabel 5.4	Hasil senyawa hasil sintesis	68
Tabel 5.5	Tabel uji kemurnian KLT senyawa hasil sintesis.....	69
Tabel 5.6	Hasil uji kemurnian senyawa-senyawa hasil sintesis dengan penentuan jarak lebur.....	70
Tabel 5.7	Karakteristik spektrum inframerah (IR) dari senyawa awal alitiourea dan senyawa BATU.....	72
Tabel 5.8	Karakterisasi spektrum ^1H -NMR senyawa BATU.....	73
Tabel 5.9	Karakteristik Spektrum ^{13}C -NMR senyawa BATU.....	74
Tabel 5.10	Spektra IR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR dan HRMS senyawa BATU.....	76
Tabel 5.11	Karakterisasi spektrum ^1H -NMR senyawa BATU-01	78
Tabel 5.12	Karakteristik Spektrum ^{13}C -NMR senyawa BATU-01.....	79
Tabel 5.13	Spektra IR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR dan HRMS senyawa BATU-01	80
Tabel 5.14	Karakterisasi spektrum ^1H -NMR senyawa BATU-02	82
Tabel 5.15	Karakteristik Spektrum ^{13}C -NMR senyawa BATU-02.....	83
Tabel 5.16	Spektra IR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR dan HRMS senyawa BATU-02.....	84
Tabel 5.17	Karakterisasi spektrum ^1H -NMR senyawa BATU-03	86
Tabel 5.18	Karakteristik Spektrum ^{13}C -NMR senyawa BATU-02.....	87
Tabel 5.19	Spektra IR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR dan HRMS senyawa BATU-03.....	89
Tabel 5.20	Karakterisasi spektrum ^1H -NMR senyawa BATU-04.....	91
Tabel 5.21	Karakteristik Spektrum ^{13}C -NMR senyawa BATU-04.....	92
Tabel 5.22	Spektra IR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR dan HRMS senyawa BATU-04.....	93
Tabel 5.23	Karakterisasi spektrum ^1H -NMR senyawa BATU-05.....	95
Tabel 5.24	Karakteristik spektrum ^{13}C -NMR senyawa BATU-05.....	96
Tabel 5.25	Spektra IR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR dan HRMS senyawa BATU-05.....	98
Tabel 5.26	Karakterisasi spektrum ^1H -NMR senyawa BATU-06.....	100
Tabel 5.27	Karakteristik Spektrum ^{13}C -NMR senyawa BATU-06.....	101
Tabel 5.28	Spektra IR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR dan HRMS senyawa BATU-06.....	102
Tabel 5.29	Karakterisasi spektrum ^1H -NMR senyawa BATU-07.....	104

Tabel 5.30	Karakteristik Spektrum ^{13}C -NMR senyawa BATU-07.....	105
Tabel 5.31	Spektra IR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR dan HRMS senyawa BATU-07.....	107
Tabel 5.32	Karakterisasi spektrum ^1H -NMR senyawa BATU-08.....	109
Tabel 5.33	Karakteristik Spektrum ^{13}C -NMR senyawa BATU-08.....	110
Tabel 5.34	Spektra IR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR dan HRMS senyawa BATU-08.....	111
Tabel 5.35	Karakteristik Spektrum ^1H -NMR senyawa BATU-09.....	113
Tabel 5.36	Karakteristik Spektrum ^{13}C -NMR senyawa BATU-09.....	114
Tabel 5.37	Spektra IR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR dan HRMS senyawa BATU-09.....	116
Tabel 5.38	Karakteristik Spektrum ^1H -NMR senyawa BATU-10.....	118
Tabel 5.39	Karakteristik Spektrum ^{13}C -NMR senyawa BATU-10.....	119
Tabel 5.40	Spektra IR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR dan HRMS senyawa BATU-10.....	120
Tabel 5.41	Karakteristik Spektrum ^1H -NMR senyawa BATU-11.....	122
Tabel 5.42	Karakteristik Spektrum ^{13}C -NMR senyawa BATU-11.....	123
Tabel 5.43	Spektra IR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR dan HRMS senyawa BATU-11.....	125
Tabel 5.44	Karakteristik Spektrum ^1H -NMR senyawa BATU-12.....	127
Tabel 5.45	Karakteristik Spektrum ^{13}C -NMR senyawa BATU-12.....	128
Tabel 5.46	Spektra IR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR dan HRMS senyawa BATU-12.....	129
Tabel 5.47	Nilai IC_{50} senyawa BATU dan turunannya pada sel MCF-7.....	132
Tabel 5.48	Nilai IC_{50} senyawa BATU dan turunannya pada sel MCF-7/HER-2.....	135
Tabel 5.49	Nilai IC_{50} senyawa BATU dan turunannya pada sel Vero	136
Tabel 5.50	Nilai Parameter Sifat Kimia Fisika dan Aktivitas Sitotoksik Senyawa BATU dan Turunannya.....	142
Tabel 5.51	Korelasi bivariat (<i>2-tailed</i>) antara $\log 1/\text{IC}_{50}$ dengan nilai parameter sifat kimia fisika.....	143
Tabel 5.52	Persamaan Regresi Linier dan Non Linier Satu Parameter Hubungan Kuantitatif Struktur Aktivitas Senyawa turunan BATU.....	144
Tabel 5.53	Persamaan regresi Linier dan Non Linier Dua Parameter Hubungan Kuantitatif Struktur Aktivitas Senyawa Turunan BATU.....	145
Tabel 5.54	Persamaan regresi Linier dan Non Linier Tiga Parameter Hubungan Kuantitatif Struktur Aktivitas Senyawa turunan BATU.....	146

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1.1	Beberapa modifikasi struktur tiourea sebagai antikanker... 3
Gambar 1.2	Struktur hidroksiurea (a), aliltiourea (b) dan <i>N</i> -(alilkarbamotioil)benzamida (c)..... 5
Gambar 1.3	Modifikasi struktur <i>N</i> -(alilkarbamotioil)benzamida dilakukan dengan mensubstitusikan pada inti benzena 12 (dua belas) gugus berdasarkan perbedaan sifat lipofilik, elektronik dan sterik 7
Gambar 2.1	Struktur <i>N</i> -(alilkarbamotioil)benzamida..... 15
Gambar 2.2	Analisis retrosintesis turunan <i>N</i> -(alilkarbamotioil)benzamida dari benzoil klorida dan aliltiourea..... 16
Gambar 2.3	Reaksi sintesis turunan benzoil klorida terhadap aliltiourea..... 16
Gambar 2.4	Mekanisme reaksi asilasi secara umum..... 18
Gambar 2.5	Mekanisme reaksi pembentukan <i>N</i> -alilkarbamotioil)benzamida dari benzoil klorida dan aliltiourea 19
Gambar 2.6	Pergeseran kimia ¹³ C beberapa tipe karbon (ppm)..... 23
Gambar 2.7	Signal transduksi pada reseptor <i>growth factor</i> 28
Gambar 2.8	Tipe <i>growth factor reseptor</i> dan beberapa mekanisme jalur signaling..... 30
Gambar 2.9	Reaksi reduksi MTT menjadi formazan oleh enzim suksinat..... 33
Gambar 3.1	Bagan Kerangka Konsep dan Hipotesis Penelitian..... 42
Gambar 4.1	Rancangan Penelitian..... 43
Gambar 4.2	Rancangan penelitian <i>in silico</i> 45
Gambar 4.3	Reaksi Sintesis menghasilkan turunan <i>N</i> -(alilkarbamotioil)benzamida..... 47
Gambar 4.4	Rancangan Modifikasi Struktur..... 48
Gambar 4.5	Skema reaksi pembuatan senyawa <i>N</i> -(alilkarbamotioil)benzamida dan turunannya..... 49
Gambar 4.6	Rancangan Uji Aktivitas Sitotoksik..... 53
Gambar 4.7	Denah pengelompokan sampel uji, kontrol pelarut, kontrol sel dan kontrol media..... 57
Gambar 5.1	Struktur senyawa <i>N</i> -(alilkarbamotioil)benzamida (BATU) dan turunannya (BATU-01 – BATU-12) dalam bentuk 2D dan 3D yang telah diminimalkan energinya dengan MMFF94, kemudian disimpan dalam bentuk file SYBYL.mol2..... 61
Gambar 5.2	<i>Human Epidermal Growth Factor Receptor-2</i> (HER-2) kode pdb: 3PP0 (a) dan Lubang terpilih pada reseptor 3PP0 yaitu tempat ligan berinteraksi (<i>cavity</i> 1) (b)..... 62

Gambar 5.3	Grafik hasil uji <i>In silico</i> (<i>Rerank Score</i>) senyawa BATU dan turunannya, senyawa awal aliltiourea (ATU), senyawa pembanding hidroksiurea (HU) dan lapatinib (LP) serta ligan standar SYR127063. Uji dilakukan terhadap reseptor <i>human epidermal growth factor-2</i> (HER-2) kode pdb. 3PP0 dengan memperhitungkan faktor RMSD dan ikatan kimia yang terlibat.....	63
Gambar 5.4	(i) Interaksi antara senyawa <i>N</i> -(alilkarbamotioil)benzamida (BATU) dan turunannya (BATU-01 s.d. BATU-12) dengan asam-asam amino pada reseptor HER-2. (ii) Gambaran 2-D proses interaksi antara ligand dan asam amino. (a) HU dengan asam-asam amino pada reseptor 3PP0. (b) Ligan standar (SYR127063) pada asam-asam amino reseptor 3PP0. Garis biru menunjukkan ikatan hidrogen dan garis merah ikatan sterik.....	65
Gambar 5.5	Sintesis Senyawa <i>N</i> -(alilkarbamotioil)benzamida dan turunannya.....	67
Gambar 5.6	Spektrum IR senyawa aliltiourea.....	71
Gambar 5.7	Spektrum IR senyawa BATU.....	72
Gambar 5.8	Spektrum ¹ H-NMR senyawa BATU.....	73
Gambar 5.9	Spektrum ¹³ C-NMR senyawa BATU.....	74
Gambar 5.10	Spektrum spektrometri masa dari senyawa BATU dengan menggunakan pelarut DMSO ₆	75
Gambar 5.11	Spektrum IR senyawa BATU-01.....	76
Gambar 5.12	Spektrum ¹ H-NMR senyawa BATU-01.....	77
Gambar 5.13	Spektrum ¹³ C-NMR senyawa BATU-01.....	78
Gambar 5.14	Spektrum spektrometri masa dari senyawa BATU-01 dengan menggunakan pelarut DMSO-D ₆	79
Gambar 5.15	Spektrum IR senyawa BATU-02.....	80
Gambar 5.16	Spektrum ¹ H-NMR senyawa BATU-02.....	81
Gambar 5.17	Spektrum ¹³ C-NMR senyawa BATU-02.....	82
Gambar 5.18	Spektrum spektrometri masa dari senyawa BATU-02 dengan menggunakan pelarut DMSO-D ₆	83
Gambar 5.19	Spektrum IR senyawa BATU-03.....	85
Gambar 5.20	Spektrum ¹ H-NMR senyawa BATU-03.....	86
Gambar 5.21	Spektrum ¹³ C-NMR senyawa BATU-03.....	87
Gambar 5.22	Spektrum spektrometri masa dari senyawa BATU-03 dengan menggunakan pelarut DMSO-D ₆	88
Gambar 5.23	Spektrum IR senyawa BATU-04.....	89
Gambar 5.24	Spektrum ¹ H-NMR senyawa BATU-04.....	90
Gambar 5.25	Spektrum ¹³ C-NMR senyawa BATU-04.....	91
Gambar 5.26	Spektrum spektrometri masa dari senyawa BATU-04 dengan menggunakan pelarut DMSO-D ₆	92
Gambar 5.27	Spektrum IR senyawa BATU-05.....	94
Gambar 5.28	Spektrum ¹ H-NMR senyawa BATU-05.....	95
Gambar 5.29	Spektrum ¹³ C-NMR senyawa BATU-05.....	96
Gambar 5.30	Spektrum spektrometri masa dari senyawa BATU-05 dengan menggunakan pelarut DMSO-D ₆	97
Gambar 5.31	Spektrum IR senyawa BATU-06.....	98
Gambar 5.32	Spektrum ¹ H-NMR senyawa BATU-06.....	99

Gambar 5.33	Spektrum ^{13}C -NMR senyawa BATU-06.....	100
Gambar 5.34	Spektrum spektrometri masa dari senyawa BATU-06 dengan menggunakan pelarut DMSO- D_6	111
Gambar 5.35	Spektrum IR senyawa BATU-07.....	103
Gambar 5.36	Spektrum ^1H -NMR senyawa BATU-07.....	104
Gambar 5.37	Spektrum ^{13}C -NMR senyawa BATU-07	105
Gambar 5.38	Spektrum spektrometri masa dari senyawa BATU-07 dengan menggunakan pelarut DMSO- D_6	106
Gambar 5.39	Spektrum IR senyawa BATU-08.....	107
Gambar 5.40	Spektrum ^1H -NMR senyawa BATU-08.....	108
Gambar 5.41	Spektrum ^{13}C -NMR senyawa BATU-08	109
Gambar 5.42	Spektrum spektrometri masa dari senyawa BATU-08 dengan menggunakan pelarut DMSO- D_6	110
Gambar 5.43	Spektrum IR senyawa BATU-09.....	112
Gambar 5.44	Spektrum ^1H -NMR senyawa BATU-09.....	113
Gambar 5.45	Spektrum ^{13}C -NMR senyawa BATU-09.....	114
Gambar 5.46	Spektrum spektrometri masa dari senyawa BATU-09 dengan menggunakan pelarut DMSO- D_6	115
Gambar 5.47	Spektrum IR senyawa BATU-10.....	116
Gambar 5.48	Spektrum ^1H -NMR senyawa BATU-10.....	117
Gambar 5.49	Spektrum ^{13}C -NMR senyawa BATU-10.....	118
Gambar 5.50	Spektrum spektrometri masa dari senyawa BATU-10 dengan menggunakan pelarut DMSO- D_6	119
Gambar 5.51	Spektrum IR senyawa BATU-11.....	121
Gambar 5.52	Spektrum ^1H -NMR senyawa BATU-11.....	122
Gambar 5.53	Spektrum ^{13}C -NMR senyawa BATU-11.....	123
Gambar 5.54	Spektrum spektrometri masa dari senyawa BATU-11 dengan menggunakan pelarut DMSO- D_6	124
Gambar 5.55	Spektrum IR senyawa BATU-12.....	125
Gambar 5.56	Spektrum ^1H -NMR senyawa BATU-12.....	126
Gambar 5.57	Spektrum ^{13}C -NMR senyawa BATU-12.....	127
Gambar 5.58	Spektrum spektrometri masa dari senyawa BATU-12 dengan menggunakan pelarut DMSO- D_6	128
Gambar 5.59	Efek perlakuan senyawa BATU dibandingkan kontrol terhadap morfologi sel MCF-7 setelah diinkubasi selama 24 jam. Pengamatan morfologi sel pada jam ke-24 dilakukan dengan <i>inverted microscope</i> dengan perbesaran 100x.....	130
Gambar 5.60	Model kurva konsentrasi vs viabilitas sel MCF-7. Efek sitotoksik pada sel MCF-7 dari senyawa: (a) BATU, ATU dan HU; (b) Senyawa BATU-01, BATU-03, BATU-06 dan LP; (c) Senyawa BATU-04, BATU-05, BATU-07, BATU-08 dan BATU-11; (d). Senyawa BATU-02, BATU-09, BATU-10 dan BATU-12. Grafik merupakan nilai rata-rata $\pm$ SD dari 3 kali percobaan.....	131
Gambar 5.61	Grafik perbandingan nilai IC_{50} pada sel MCF-7 dari senyawa BATU dan 12 senyawa turunannya, senyawa awal aliltiurea (ATU), pembanding hidroksiurea (HU) dan lapatinib (LP). Nilai IC_{50} diurutkan berdasarkan aktivitas sitotoksik rendah ke tinggi (IC_{50} tinggi ke rendah)	133

Gambar 5.62	Efek perlakuan senyawa BATU dibandingkan control terhadap morfologi sel MCF-7/HER-2 setelah diinkubasi selama 24 jam dengan media DMEM. Pengamatan morfologi sel pada jam ke-24 dilakukan dengan <i>inverted microscope</i> dengan perbesaran 100x.	133
Gambar 5.63	Model kurva konsentrasi vs viabilitas sel MCF-7/HER-2. Efek sitotoksik pada sel MCF-7/HER-2 dari senyawa: (a) BATU, ATU dan HU; (b) Senyawa BATU-01, BATU-03, BATU-06 dan LP; (c) Senyawa BATU-04, BATU-05, BATU-07, BATU-08 dan BATU-11; (d). Senyawa BATU-02, BATU-09, BATU-10 dan BATU-12. Grafik merupakan nilai rata-rata $\pm$ SD dari 3 kali percobaan.....	134
Gambar 5.64	Grafik perbandingan nilai IC ₅₀ pada sel MCF-7/HER-2 dari senyawa BATU dan 12 senyawa turunannya, senyawa awal aliltiourea (ATU), pembanding hidroksiurea (HU) dan lapatinib (LP). Nilai IC ₅₀ diurutkan berdasarkan aktivitas sitotoksik rendah ke tinggi (IC ₅₀ tinggi ke rendah).	135
Gambar 5.65	Efek perlakuan sampel BATU terhadap morfologi sel Vero setelah diinkubasi selama 24 jam. Pengamatan morfologi sel pada jam ke-24 dilakukan dengan <i>inverted microscope</i> dengan perbesaran 400x.....	136
Gambar 5.66	Grafik perbandingan selektivitas senyawa BATU dan 12 senyawa turunannya pada sel normal Vero. Nilai IC ₅₀ diurutkan berdasarkan selektivitas terhadap sel normal dari rendah ke tinggi.....	137
Gambar 5.67	Optimasi antibodi HER-2 (α -HER-2) terhadap ekspresi HER-2 pada sel MCF-7 (A) dan MCF-7/HER-2 (B) dengan metode <i>western blot</i>	137
Gambar 5.68	(i) Ekspresi HER-2 dari senyawa uji (BATU dan ATU) pada berbagai konsentrasi terhadap sel MCF-7/HER-2. Sel tanpa perlakuan (Kontrol) dan sel dengan perlakuan (BT=BATU dan AT=ATU) dengan konsentrasi 100, 250, 500, 750 dan 1000uM selama 24 jam, kemudian dianalisis dengan metode <i>western blot</i> . (ii) Analisis hasil ekspresi HER-2 oleh senyawa uji BATU. Analisis hasil dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak <i>ImageJ</i> [®] untuk mengukur intensitas pita ekspresi HER-2 pada sel line MCF-7/HER-2 dibanding kontrol.....	138
Gambar 5.69	Gambar 5.69 (i) Ekspresi dan lokalisasi p65 (NF- κ B) akibat perlakuan sampel BATU pada sel MCF-7/HER-2 selama 24 jam dengan metode <i>western blot</i> . (ii) Ekspresi dan lokalisasi p-65 (NF- κ B) pada sel line MCF-7/HER-2 dengan menggunakan metode <i>immunofluorescence</i> . (a) <i>Cytoplasmic</i> dan (b) <i>Nuclear</i> . Sebanyak 8 x 10 ³ sel/sumuran ditumbuhkan pada coverslips tanpa perlakuan senyawa. Sel diinkubasi dengan antibodi primer p65 (NF- κ B) serta Alexa 488 dan Hoechst [®] 33342 <i>double staining</i> . Visualisasi dilakukan di bawah mikroskop fluorescent.....	139
Gambar 6.1	Struktur N-(Alilkarbamotioil)benzamida.....	155
Gambar 6.2	Struktur N-(Alilkarbamotioil)-4-klorobenzamida.....	156

Gambar 6.3	Struktur <i>N</i> -(Alilkarbamotioil)-3-klorobenzamida.....	157
Gambar 6.4	Struktur <i>N</i> -(Alilkarbamotioil)-2-klorobenzamida.....	158
Gambar 6.5	Struktur <i>N</i> -(Alilkarbamotioil)-3,4-diklorobenzamida.....	159
Gambar 6.6	Struktur <i>N</i> -(Alilkarbamotioil)-2,4-diklorobenzamida.....	160
Gambar 6.7	Struktur <i>N</i> -(Alilkarbamotioil)-4-bromobenzamida.....	161
Gambar 6.8	Struktur <i>N</i> -(Alilkarbamotioil)-4-fluorobenzamida.....	162
Gambar 6.9	Struktur <i>N</i> -(Alilkarbamotioil)-4-metilbenzamida	163
Gambar 6.10	Struktur <i>N</i> -(Alilkarbamotioil)-4-metoksibenzamida.....	164
Gambar 6.11	Struktur <i>N</i> -(Alilkarbamotioil)-4- <i>tert</i> -butilbenzamida	165
Gambar 6.12	Struktur <i>N</i> -(Alilkarbamotioil)-4-nitrobenzamida	166
Gambar 6.13	Struktur <i>N</i> -(Alilkarbamotioil)-4-trifluorometilbenzamida...	167
Gambar 6.14	Kurva perbandingan nilai sektifitas senyawa BATU dan turunannya dari sel normal terhadap sel kanker terhadap sel MCF-7 dan MCF-7/HER-2.....	171
Gambar 6.15	Kurva perbandingan nilai IC ₅₀ dari senyawa BATU dan turunannya terhadap sel MCF-7 dan MCF-7/HER-2.....	172

DAFAR LAMPIRAN

		Halaman
Lampiran 1	Struktur senyawa <i>N</i> -(alilkarbamotioil)benzamida (BATU) dan turunannya dalam bentuk 2D dan 3D.....	191
Lampiran 2	Rangkuman hasil spektra IR, ¹ H-NMR, ¹³ C-NMR dan HR-MS Senyawa BATU dan turunannya.....	193
Lampiran 3	Seri konsentrasi senyawa uji dan senyawa pembanding.....	194
Lampiran 4	Perhitungan Seri Konsentrasi.....	195
Lampiran 5	Kristal Formazan, Sel MCF-7 dan Sel MCF-7/HER-2	196
Lampiran 6	Data persentase sel hidup (% viabilitas sel) setelah pemberian berbagai konsentrasi senyawa uji pada sel MCF-7, MCF-7/HER-2 dan Vero.....	197
Lampiran 7	Tabel Persamaan regresi dan bentuk kurva hubungan antara % viabilitas dan konsentrasi.....	199
Lampiran 8	Data Uji Aktivitas Sitotoksik	200
Lampiran 9	Contoh Protein <i>Assay</i> dan SDS <i>Page</i>	208
Lampiran 10	Perhitungan statistik regresi linier dengan menggunakan program IBM SPSS Statistik 19 antara nilai <i>Rerank Score</i> (RS) terhadap reseptor 3PP0 dan Log 1/IC ₅₀	209
Lampiran 11	Persamaan Terbaik Regresi Linier dan Non Linier Satu Parameter Hubungan Kuantitatif Struktur Aktivitas Senyawa BATU dan Turunannya.....	210
Lampiran 12	Persamaan Terbaik Regresi Linier dan Non Linier Dua Parameter Hubungan Kuantitatif Struktur Aktivitas Senyawa BATU dan Turunannya	211
Lampiran 13	Persamaan Terbaik Regresi Linier dan Non Linier Tiga Parameter Hubungan Kuantitatif Struktur Aktivitas Senyawa BATU dan Turunannya.....	212
Lampiran 14	Nilai F tabel untuk probabilita 0.05 (sig. 5%).....	213
Lampiran 15	Surat Keterangan Sel MCF-7 dan MCF-7/HER-2.....	214

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

ATP	=	<i>Adenosine triphosphate</i>
BATU	=	<i>N-(Allylcarbamothioyl)benzamide</i>
Bcl-2	=	<i>B-cell lymphoma 2</i>
BRCA-1	=	<i>Breast cancer susceptibility gene type 1</i>
CADD	=	<i>Computer-aided drug design</i>
CAMD	=	<i>Computer-aided molecular design</i>
CCRC	=	<i>Cancer chemoprevention research centre</i>
CDK	=	<i>Cyclin-dependent kinase</i>
CMR	=	<i>Molar refractivity coefficient</i>
ClogP	=	<i>Logaritmic partision coefficient</i>
DEPT	=	<i>Distortionless enhancement by polarization transfer</i>
DNA	=	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
DMEM	=	<i>Dulbecco's modified eagle medium</i>
DMSO	=	<i>Dimethyl sulfoxide</i>
EDTA	=	<i>Ethylene diamine tetra acid</i>
ELISA	=	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
E_{tot}	=	<i>Total energy</i>
EGF	=	<i>Epidermal growth factor</i>
EGFR	=	<i>Epidermal growth factor receptor</i>
ER	=	<i>Estrogen receptor</i>
ERK	=	<i>Extracellular signal-regulated kinase</i>
FAK	=	<i>Focal adhesion kinase</i>
FBS	=	<i>Fetal bovine serum</i>
FTIR	=	<i>Fourier transform infra red</i>
HER-2	=	<i>Human epidermal growth factor receptor-2</i>
HeLa	=	<i>Henrietta lacks</i>
HRMS	=	<i>High Resolution Mass Spectrometry</i>
IARC	=	<i>International agency for research on cancer</i>
I κ B	=	<i>Inhibitor of kappa B</i>
I κ K	=	<i>Inhibitor of kappa B kinase</i>

IUPAC	=	<i>International union of pure and applied chemistry</i>
IC ₅₀	=	<i>Inhibitory concentration 50%</i>
LFER	=	<i>Linear free energy relationship</i>
LAF	=	<i>Laminar air flow</i>
MAP	=	<i>Mitogen-activated protein</i>
MCF-7	=	<i>Michigan cancer foundation-7</i>
MCF-7/HER-2	=	<i>Michigan cancer foundation-7/Human epidermal growth factor-2</i>
MVD	=	<i>Molegro virtual docker</i>
MTT	=	<i>3-(4,5-dimethylthiazole-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide</i>
MAPK	=	<i>Mitogen-activated protein kinase</i>
NAD ⁺	=	<i>Nicotinamida adenina dinukleotida</i>
NF-κB	=	<i>nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells</i>
NMR	=	<i>Nuclear magnetic resonance</i>
PI3K	=	<i>Phosphatidyl inositide 3-kinase</i>
PPM	=	<i>Part per million</i>
PBS	=	<i>Phosphate buffer saline</i>
PDGF	=	<i>Platelet-derived growth factor</i>
PR	=	<i>Progesteron reseptor</i>
PTKs	=	<i>Protein tirosin kinase</i>
PVDF	=	<i>Polyvinylidene difluoride</i>
RS	=	<i>Rerank score</i>
RMSD	=	<i>Root mean square deviation</i>
RNA	=	<i>Ribonucleic acid</i>
RPMI	=	<i>Roswell park memorial institute</i>
SPSS	=	<i>Statistical product and service solutions</i>
SDS	=	<i>Sodium dodecyl sulfat</i>
<i>t</i> PSA	=	<i>Topological polar surface area</i>
WHO	=	<i>World health organization</i>
¹³ C-NMR	=	<i>Carbon-13 nuclear magnetic resonance</i>
¹ H-NMR	=	<i>Proton-1 nuclear magnetic resonance</i>