DETAIL DOCUMENT
Research

Detail Research

Verified by at 0000-00-00 00:00:00

NIDN Leader
0506087901

Leader Name
ENADE PERDANA ISTYASTONO

PDDIKTI Code PT (Leader)
051012

Institution (Leader)
Universitas Sanata Dharma

Title
Aplikasi Kimia Medisinal Komputasi dalam Identifikasi Fitoestrogen sebagai Ligan pada Reseptor Estrogen Alfa

Skema Abbreviation
PBK/Hikom

Skema Name
Penelitian Berbasis Kompetensi

The First year of the proposal
Tahun Pertama Usulan
2015

Proposed Year of Activities
Tahun Usulan Kegiatan
2017

The Year of The Activity
Tahun Pelaksanaan Kegiatan
2018

Duration of activity
Lama Kegiatan
3 Year

Proposal Status
didanai

Funds are approved
Rp. 130.000.000,-

SINTA Afiliasi ID
422

Funds Institution
Universitas Sanata Dharma ✔ in sync with Sinta Affiliation

Target TKT
TKT 0

Hibah Program
Penelitian Kompetitif Nasional

Focus Area
Kesehatan

Fund Source Category
Pemerintah

Fund Source

Country Fund Source
ID

Research Member

ENADE PERDANA ISTYASTONO
*Registered in Sinta using **ENADE PERDANA ISTYASTONO** (Sinta ID : 31032)*
Status : Leader (Leader) | Universitas Sanata Dharma

SRI HARTATI YULIANI
*Registered in Sinta using **SRI HARTATI YULIANI** (Sinta ID : 5977336)*
Status : Member (Member 1) | Universitas Sanata Dharma

UNIVERSITAS
SANATA DHARMA
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT

SURAT TUGAS PENELITIAN

No. 007b/ LPPM USD /II/2018

Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Sanata Dharma Yogyakarta dengan ini memberikan tugas kepada:

Nama	: Enade Perdana Istyastono, Ph.D., Apt.
Pekerjaan	: Dosen
NIP/NIDN/Golongan	: P.1969 / 0506087901/ Pembina IV/a
Jabatan Fungsional	: Lektor Kepala
Program Studi	: Farmasi
Fakultas	: Farmasi
Status	: Ketua Peneliti

Untuk melaksanakan penelitian Kompetitif yang didanai oleh Kementrian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan dengan:

Judul Penelitian	: Aplikasi Kimia Medisinal Komputasi dalam Identifikasi Fitoestrogen sebagai Ligan pada Reseptor Estrogen Alfa.
Skim Penelitian	: Penelitian Kompetensi tahun ke 3
Waktu Penelitian	: Februari – November 2018

Penerima tugas penelitian wajib mematuhi ketentuan-ketentuan penelitian sebagaimana diatur oleh Kementrian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan.

Demikian surat tugas penelitian ini dibuat, mohon dilaksanakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 2 Februari
Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat
Universitas Sanata Dharma

Dr. Anton Haryono, M.Hum.
Ketua

Tembusan:

1. Yth. Rektor
2. Yth. Wakil Rektor I
3. Yth. Dekan/Direktur Pasca Sarjana
4. Yth. Ketua Program Studi
5. Arsip

Alamat: Jl. Affandi, Mrican, Tromol Pos 29, Yogyakarta 55002 Telp. (0274) 513301 Ext. 1527, Fax (0274) 562383 website: http:/www.usd.ac.id/lembaga/lppm Email : lemlit@usd.ac.id
Acc. No, CIMB NIAGA LEMBAGA PENELITIAN UNIV. SANATA DHARMA 287.01.00277.00.5

UNIVERSITAS
SANATA DHARMA
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT

SURAT TUGAS PENELITIAN

No. 007b/ LPPM USD /II/2018

Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat Universitas Sanata Dharma Yogyakarta dengan ini memberikan tugas kepada:

Nama	: Dr. Sri Hartati Yuliani, Apt.
Pekerjaan	: Dosen
NIP/NIDN/Golongan	: P.1828/ 0520077201/ Pembina IV/a
Jabatan Fungsional	: Lektor Kepala
Program Studi	: Farmasi
Fakultas	: Farmasi
Status	: Anggota Peneliti

Untuk melaksanakan penelitian Kompetitif yang didanai oleh Kementrian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan dengan:

Judul Penelitian	: Aplikasi Kimia Medisinal Komputasi dalam Identifikasi Fitoestrogen sebagai Ligan pada Reseptor Estrogen Alfa.
Skim Penelitian	: Penelitian Kompetensi tahun ke 3
Waktu Penelitian	: Februari – November 2018

Penerima tugas penelitian wajib mematuhi ketentuan-ketentuan penelitian sebagaimana diatur oleh Kementrian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan.

Demikian surat tugas penelitian ini dibuat, mohon dilaksanakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 2 Februari
Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat
Universitas Sanata Dharma

Dr. Anton Haryono, M.Hum.
Ketua

Tembusan:

1. Yth. Rektor
2. Yth. Wakil Rektor I
3. Yth. Dekan/Direktur Pasca Sarjana
4. Yth. Ketua Program Studi
5. Arsip

Alamat: Jl. Affandi, Mrican, Tromol Pos 29, Yogyakarta 55002 Telp. (0274) 513301 Ext. 1527, Fax (0274) 562383 website: http:/www.usd.ac.id/lembaga/lppm Email : lemlit@usd.ac.id
Acc. No, CIMB NIAGA LEMBAGA PENELITIAN UNIV. SANATA DHARMA 287.01.00277.00.5

LAPORAN TAHUN TERAKHIR

PENELITIAN BERBASIS KOMPETENSI

Aplikasi Kimia Medisinal Komputasi untuk Identifikasi Fitoestrogen sebagai Ligan pada Reseptor Estrogen Alfa

Tahun ke-3 (tiga) dari rencana 3 (tiga) tahun

ENADE PERDANA ISTYASTONO, Ph.D., Apt. (NIDN: 0506087901)

Dr. SRI HARTATI YULIANI, S.Si., M.Si., Apt. (NIDN: 0520077201)

Dibiayai oleh:

Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat
Direktorat Jenderal Penguatan Riset dan Pengembangan
Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi
Sesuai dengan Kontrak Nomor:
1. 109/SP2H/LT/DRPM/2018
2. 017/Penel.LPPM USD/III/2018

UNIVERSITAS SANATA DHARMA

NOVEMBER 2018

HALAMAN PENGESAHAN

Judul	: Aplikasi Kimia Medisinal Komputasi dalam Identifikasi Fitoestrogen sebagai Ligan pada Reseptor Estrogen Alfa
Peneliti/Pelaksana	
Nama Lengkap	: ENADE PERDANA ISTYASTONO, S.Farm, Apt, M.Sc., PhD
Perguruan Tinggi	: Universitas Sanata Dharma
NIDN	: 0506087901
Jabatan Fungsional	: Lektor Kepala
Program Studi	: Farmasi
Nomor HP	: 081510704594
Alamat surel (e-mail)	: enade.istyastono@gmail.com
Anggota (1)	
Nama Lengkap	: Dr SRI HARTATI YULIANI S.Si, Apt, M.Si
NIDN	: 0520077201
Perguruan Tinggi	: Universitas Sanata Dharma
Institusi Mitra (jika ada)	
Nama Institusi Mitra	: -
Alamat	: -
Penanggung Jawab	: -
Tahun Pelaksanaan	: Tahun ke 3 dari rencana 3 tahun
Biaya Tahun Berjalan	: Rp 130,000,000
Biaya Keseluruhan	: Rp 357,500,000

Mengetahui,
Dekan Fakultas Farmasi

(Dr. Yustina Sri Hartini, Apt.)
NIP/NIK P. 1557

D.I. YOGYAKARTA, 2 - 11 - 2018
Ketua,

(ENADE PERDANA ISTYASTONO, S.Farm, Apt, M.Sc., PhD)
NIP/NIK P.1969

Menyetujui,
Ketua LPPM USD

(Dr. rer. nat. Herry P. Suryawan)
NIP/NIK P. 2236

RINGKASAN

Senyawa-senyawa fitoestrogen, senyawa dari tumbuhan yang memiliki aktivitas estrogenik, dilaporkan berpotensi untuk dikembangkan sebagai agen kemoprevensi untuk kanker payudara dan agen yang terlibat dalam proliferasi pada proses penyembuhan luka. Senyawa-senyawa estrogenik mempengaruhi tubuh dengan berfungsi sebagai ligan pada reseptor-reseptor estrogen. Salah satu reseptor estrogen yaitu reseptor estrogen alfa (REα) merupakan target penemuan obat kanker payudara tervalidasi. Penelitian yang diusulkan ini bertujuan mengaplikasikan kimia medisinal komputasi dengan mengembangkan protokol uji *in silico* dengan teknik penapisan virtual berbasis struktur bertulangpunggungkan simulasi penambatan molekuler dan indentifikasi sidik jari interaksi untuk mengidentifikasi senyawa-senyawa fitoestrogen sebagai ligan pada REα. Pengujian *in silico* diikuti dengan verifikasi secara *in vitro* menggunakan kanker payudara yang mengekspresikan REα. Dengan demikian, selain memperoleh protokol uji *in silico* untuk identifikasi ligan-ligan moderat dan poten pada REα, diperoleh pula fitoestrogen yang berpotensi untuk dikembangkan menjadi agen kemoprevensi kanker payudara atau agen proliferasi pada proses penyembuhan luka.

Pada tahun pertama telah dihasilkan dua luaran penting yaitu: (i) Basis data fitoestrogen virtual hasil studi literatur yang siap diuji secara *in silico* dengan protokol uji yang dikembangkan di penelitian ini dan (ii) protokol uji *in silico* yang tervalidasi untuk identifikasi ligan poten pada REα. Pada tahun ke-2 telah dihasilkan dua luaran penting, yaitu: (i) Protokol uji *in silico* yang tervalidasi untuk identifikasi ligan moderat pada REα dan (ii) Hasil verifikasi secara *in vitro* senyawa genistein dan daidzein. Di tahun ke-3 ini dilanjutkan dengan pengembangan aplikasi uji *in silico* secara *offline* untuk identifikasi ligan-ligan moderat maupun poten pada REα berbasis pada hasil validasi di tahun ke-1 dan ke-2 serta dilakukan verifikasi *in vitro* pada beberapa senyawa alami dari basis data fitoestrogen yang dikembangkan di tahun ke-1 yang diuji secara *in silico* menggunakan aplikasi yang dikembangkan. Di tahun ke-3, dilakukan pula penulisan buku yang memaparkan proses dan hasil penelitian terkait hingga tahun ke-3 ini. Aplikasi yang dikembangkan dan validasinya sudah dipublikasikan dan buku tentang proses pengembangan dan validasi aplikasi sudah diterbitkan.

Kata kunci: Fitoestrogen, penambatan molekuler, sidik jari interaksi interaksi, penapisan virtual berbasis struktur.

PRAKATA

Puji syukur kepada Allah yang Mahakasih atas karunia-Nya sehingga Laporan Tahun Terakhir Penelitian Hibah Kompetensi yang berjudul “Aplikasi Kimia Medisinal Komputasi untuk Identifikasi Fitoestrogen sebagai Ligan pada Reseptor Estrogen Alfa” tahun ke-3 ini dapat diselesaikan sebelum tenggat waktu. Kritik dan saran dari semua pihak yang bersifat membangun selalu kami harapkan demi perbaikan laporan ini maupun kinerja penelitian kelompok riset kami. Disampaikan pula terima kasih kepada semua pihak yang terlibat dalam penelitian maupun dalam penyusunan laporan penelitian.

Yogyakarta, 7 November 2018

Penyusun

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN …….. 1

RINGKASAN ……..... 2

PRAKATA ……... 3

DAFTAR ISI ……. 4

BAB 1. PENDAHULUAN ……..…… 5

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA …… 9

BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN 14

BAB 4. METODE PENELITIAN …….. 15

BAB 5. HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI ...……..... 17

BAB 6. KESIMPULAN DAN SARAN …….. 19

DAFTAR PUSTAKA …… 20

LAMPIRAN-LAMPIRAN 24

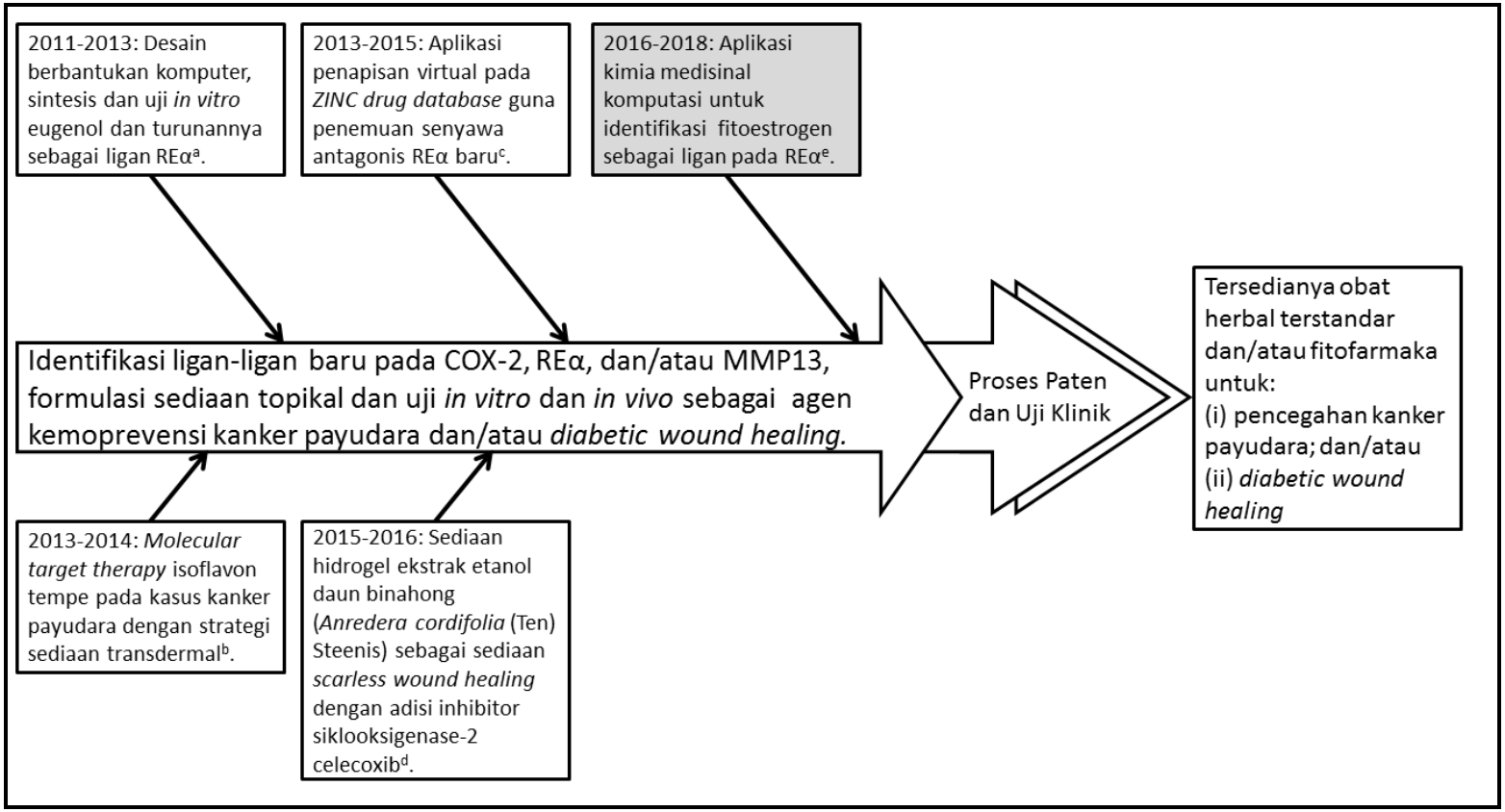
BAB 1. PENDAHULUAN

Senyawa fitoestrogen adalah senyawa fitokimia yang memiliki efek estrogenik maupun anti estrogenik (Dixon, 2004; Helferich et al., 2008). Fitoestrogen dikategorikan dalam isoflavonid, flavonoid, stilbenoid dan lignan (Dixon, 2004). Hingga saat ini, isoflavon kedelai genistein merupakan fitoestrogen yang paling lengkap penelitiannya (Dixon, 2004; Helferich et al., 2008; Varinska et al., 2015). Fitoestrogen menarik untuk diteliti karena selain potensinya sebagai agen kemoprevensi kanker payudara (Balunas et al., 2008; Helferich et al., 2008; Setiawati et al., 2014a, 2014b), fitoestrogen juga memiliki peran penting dalam *diabetic wound healing* (Thornton, 2013; Tie et al., 2013), osteoporosis, fungsi kognitif, penyakit kardiovaskuler, kekebalan dan inflamasi, dan reproduksi (Dixon, 2004). Meskipun sudah cukup banyak senyawa fitokimia yang teridentifikasi sebagai fitoestrogen (Dixon, 2004; Helferich et al., 2008), daftar komprehensif yang memuat fitoestrogen belum tersedia. Hal ini membuat penelitian-penelitian untuk mempelajari bagaimana fitoestrogen berikatan dengan reseptornya, terutama pada reseptor estrogen alfa (REα) menjadi terhambat (Istyastono, 2015; Pathania et al., 2015; Setiawati et al., 2014a). Diperkirakan pula masih banyak fitoestrogen yang berasal dari bahan alam belum teridentifikasi aktivitasnya terhadap REα.

Penelitian yang diusulkan ini merupakan lanjutan dari beberapa penelitian sebelumnya tentang **pengembangan dan validasi protokol *in silico*** (Setiawati et al., 2014a) **untuk identifikasi ligan-ligan pada** REα**, termasuk fitoestrogen α-mangostin (Setiawati et al., 2014a, 2014b)**. Protokol yang dikembangkan tersebut (Setiawati et al., 2014a) divalidasi menggunakan basis data ligan dan *decoy* yang dikonstruksi dan dikelola oleh (Mysinger et al., 2012) dengan nama DUD-e (http://dude.docking.org/). Definisi operasional ligan pada basis data ini adalah senyawa-senyawa dengan nilai IC_{50} atau Ki tidak lebih dari 1 µM (Mysinger et al., 2012). Sebagian besar senyawa senyawa fitoestrogen memiliki nilai IC_{50} atau Ki antara 1 µM - 1 mM (Balunas et al., 2008; Matsuda et al., 2001; Setiawati et al., 2014b). Oleh karena itu, protokol yang sudah dikembangkan dan divalidasi (Setiawati et al., 2014a) tidak mampu mengidentifikasi senyawa-

senyawa fitoestrogen (Anita et al., 2012; Setiawati et al., 2014b). Pada basis data DUD-e (Mysinger *et al*., 2012) juga dikelola senyawa-senyawa yang terbukti aktif sebagai ligan marginal atau ligan moderat pada REα. Ligan-ligan tersebut memiliki nilai IC_{50} atau Ki antara 1 µM hingga 1 mM pada REα. Hal ini memberi peluang untuk mengembangkan protokol untuk mengidentifikasi ligan-ligan moderat pada REα, termasuk fitoestrogen (Grattan, 2013; Matsuda et al., 2010; Setiawati et al., 2014b) maupun turunan dan analognya (Anita et al., 2012). Identifikasi fitoestrogen secara *in silico*, meskipun harus diverifikasi secara *in vitro* maupun *in vivo* (de Graaf et al., 2011; Istyastono et al., 2015b, 2015a, 2011), dapat berfungsi sebagai peringatan maupun identifikasi awal aktivitas estrogenik tanaman-tanaman yang mengandung senyawa-senyawa tersebut (Grattan, 2013). Verifikasi secara *in vitro* dilakukan dengan menggunakan sel kanker payudara yang mengekpresikan REα (Istyastono et al., 2015b; Setiawati et al., 2014b).

Kegiatan penelitian ini mengacu pada salah satu tema unggulan Universitas Sanata Dharma (USD) seperti yang tercantum dalam Rencana Induk Penelitian USD 2016-2020 yaitu "Penyakit Degeneratif, Penyakit Kanker dan Obat Bahan Alam". Pada peta jalan kegiatan (Gambar 1.1) disampaikan bahwa kegiatan penelitian ini bermuara pada "tersedianya obat herbal terstandar dan/atau fitofarmaka untuk: (i) pencegahan kanker payudara; dan (ii) *diabetic wound healing* (penyembuhan luka pada penderita diabetes). Secara menyeluruh, di level atomik dan molekuler, kegiatan ini fokus pada penemuan ligan-ligan baru pada siklooksigenase-2 (COX-2), REα dan/atau matriks metalloproteinase 13 (MMP13) dari bahan alam dan pada level preklinik dilakukan penelitian formulasi sediaan topikal dan pengujian *in vivo*. Secara khusus, hasil yang diharapkan dari kegiatan penelitian yang diusulkan ini adalah **senyawa-senyawa bahan alam yang teridentifikasi sebagai ligan moderat maupun ligan poten pada REα yang dapat berfungsi sebagai senyawa penuntun penemuan agen-agen kemoprevensi kanker payudara dan/atau sebagai agen-agen *diabetic wound healing***. Rencana target capaian tahunan disampaikan pada Tabel 1.1.



Gambar 1.1. Peta jalan kegiatan penelitian yang diusulkan.

Keterangan gambar: [a)](Anita et al., 2015, 2012; Radifar et al., 2013a); [b)](Setiawati et al., 2014a, 2014b; Yuliani et al., 2016); [c)](Istyastono et al., 2015b[)]; [d)](Istyastono, 2016); [e)]Penelitian ini.

Tabel 1.1 Rencana Target Capaian Tahunan

No.	Jenis Luaran		Indikator Capaian		
			2016	**2017**	**2018**
1	Publikasi Ilmiah	Internasional	Tidak ada	*Accepted/ Published*	*Accepted/ Published*
		Nasional Terakreditasi	*Published*	Tidak ada	Tidak ada
2	Pemakalah dalam temu ilmiah	Nasional	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
		Internasional	Sudah dilaksanakan	Tidak ada	Tidak ada
3	*Invited speaker* dalam temu ilmiah	Nasional	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
		Internasional	Sudah dilaksanakan	Tidak ada	Tidak ada
4	*Visiting lecturer*	Internasional	Sudah dilaksanakan	Sudah dilaksanakan	Sudah dilaksanakan
5	Hak Kekayaan Intelektual (HKI)	Paten	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
		Paten sederhana	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
		Hak Cipta	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
		Merek dagang	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
		Rahasia dagang	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
		Desain Produk Industri	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
		Indikasi Geografis	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
		Perlindungan Varietas Tanaman	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
		Perlindungan Topografi Sirkuit Terpadu	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
6	Teknologi Tepat Guna		Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
7	Model/Purwarupa/Desain/Karya seni/Rekayasa Sosial		Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada
8	Buku Ajar (ISBN)		Sudah terbit	*Draft*	Sudah terbit
9	Tingkat Kesiapan Teknologi		2	2	3

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

A. Reseptor Estrogen Alfa (REα)

Reseptor estrogen α (REα), merupakan target pilihan dalam terapi kanker payudara terkait hormon (Harvey et al., 1999). Lebih dari 60% kanker payudara mengalami overekspresi REα (Hanstein et al., 2004). Tamoxifen, obat pilihan untuk kemoterapi kanker payudara merupakan antagonis REα (Mouridsen et al., 2009). Metabolit tamoxifen, 4-hidroksi-tamoxifen (4-OHT) dan N-*des*-metil-4-hidrokso-tamoxifen yang memiliki afinitas 30 hingga 100 kali lipat lebih kuat terhadap REα (Desta et al., 2004).

Struktur kristal REα dengan 4-OHT disimpan serta dapat diakses publik di situs *Protein Data Bank* (PDB) dengan kode 3ERT (Anita et al., 2012; Shiau et al., 1998). Inspeksi visual struktur kristal REα menunjukkan 70 residu asam amino yang membentuk *binding pocket*, yaitu: LEU327, TYR328, SER329, GLU330, SER341, MET342, MET343, GLY344, LEU345, LEU346, THR347, ASN348, LEU349, ALA350, ASP351, ARG352, GLU353, LEU354, VAL355, MET357, LEU379, GLU380, CYS381, ALA382, TRP383, LEU384, GLU385, ILE386, LEU387, MET388, ILE389, GLY390, LEU391, VAL392, ARG394, SER395, LEU402, LEU403, PHE404, ALA405, LEU408, LEU410, GLY415, VAL418, GLU419, GLY420, MET421, VAL422, GLU423, ILE424, PHE425, LEU428, ILE514, HIS516, MET517, SER518, ASN519, LYS520, GLY521, MET522, GLU523, HIS524, LEU525, TYR526, SER527, MET528, LYS529, CYS530, LEU536, dan LEU539 (Anita et al., 2012; Shiau et al., 1998). Keberadaan struktur kristal ini membuka peluang untuk mengembangkan metode uji *in silico* yang valid dan prediktif untuk mengidentifikasi ligan-ligan pada REα guna dikembangkan lebih lanjut sebagai agen kemoprevensi maupun obat anti kanker payudara (Anita et al., 2012; Huang et al., 2006; Mysinger et al., 2012; Radifar et al., 2013a; Setiawati et al., 2014b, 2014a; Shiau et al., 1998).

Senyawa-senyawa yang berinteraksi dengan REα akan mempengaruhi peran REα dalam sistem hormon (Ali and Coombes, 2000; Brooks et al., 1973; Matsuda et al., 2001). Identifikasi ligan merupakan langkah awal yang perlu diverifikasi aktivitas fungsionalnya, sebagai agonis atau antagonis (Huang et al.,

2006; Mysinger et al., 2012; Shiau et al., 1998). Secara *in vivo*, senyawa-senyawa yang mampu berikatan dengan REα memiliki aktivitas estrogenik maupun anti estrogenik (Song and Pan, 2012).

B. Penapisan Virtual Bertargetkan Reseptor Estrogen Alfa (REα)

Keberadaan struktur kristal REα (Shiau et al., 1998) membuka peluang untuk pengembangan metode uji *in silico* untuk penapisan virtual berbasis struktur (PVBS) untuk identifikasi senyawa-senyawa ligan pada REα (Anita et al., 2012; Huang et al., 2006; Mysinger et al., 2012; Radifar et al., 2013a; Setiawati et al., 2014b, 2014a; Shiau et al., 1998). Seiring perkembangan teknologi kimia medisinal komputasi terutama teknologi identifikasi sidik jari interaksi (Kooistra et al., 2013; Rognan, 2012; Salentin et al., 2014), kualitas PVBS untuk identifikasi ligan-ligan pada REα meningkat (Setiawati et al., 2014a). Namun, protokol-protokol tersebut dikembangkan dan divalidasi secara retrospekti dengan ligan-ligan poten (Huang et al., 2006; Mysinger et al., 2012) sehingga kurang relevan dan seringkali tidak mampu mengenali ligan-ligan moderat pada REα (Setiawati et al., 2014b, 2014a).

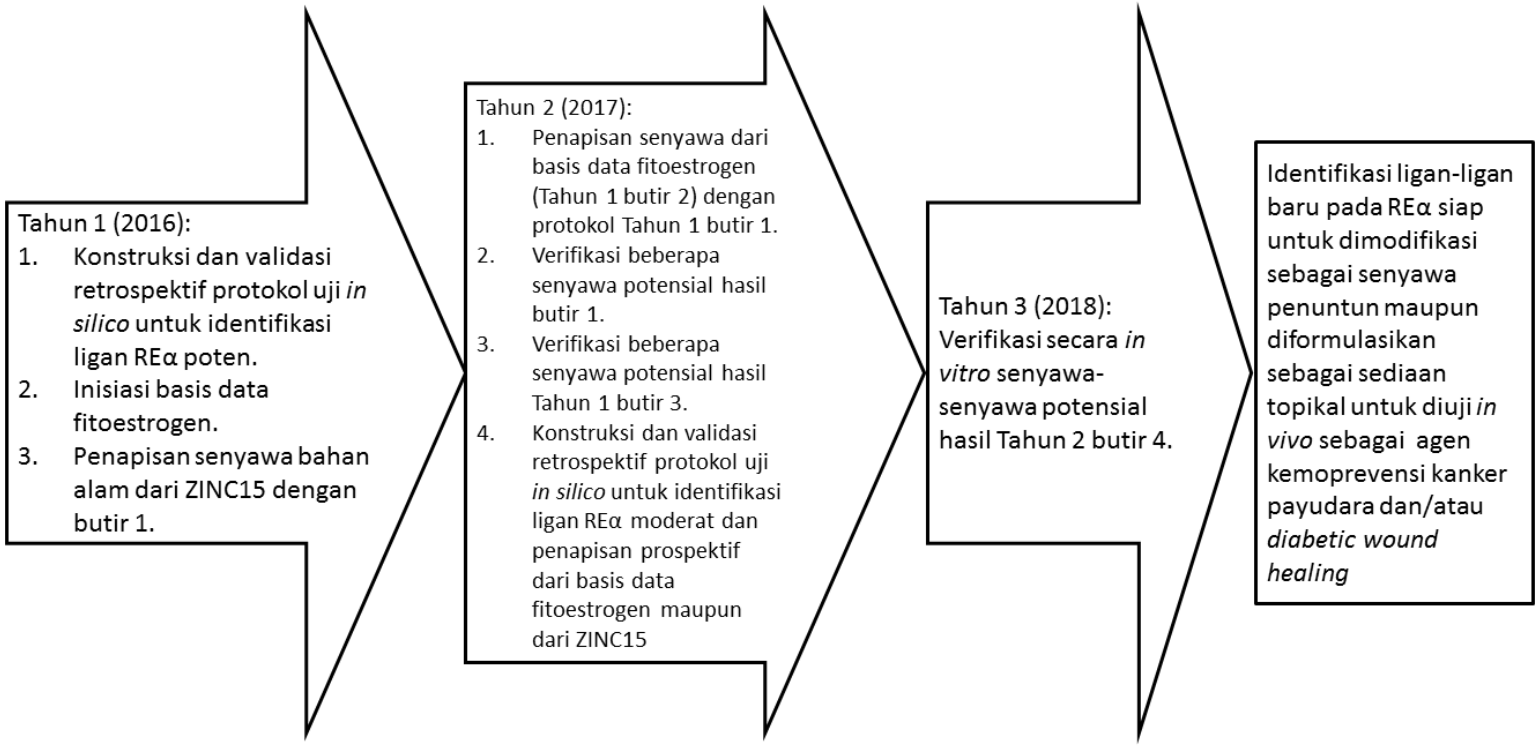
C. Fitoestrogen

Fitoestrogen merupakan senyawa-senyawa dari tanaman yang memiliki aktivitas estrogenik maupun anti estrogenik (Grattan, 2013; Hopert et al., 1998; Matsuda et al., 2001). Aktivitas tersebut didominasi oleh peran REα (Song and Pan, 2012). Keberadaan metode uji *in silico* untuk identifikasi senyawa-senyawa di tanaman yang mampu berikatan dengan REα akan meningkatkan efektivitas dan efisiensi penemuan fitoestrogen (Setiawati et al., 2014b, 2014a) Namun metode-metode uji *in silico* yang ada (Anita et al., 2012; Huang et al., 2006; Mysinger et al., 2012; Radifar et al., 2013a; Setiawati et al., 2014a)(Anita *et al*., 2012; Huang *et al*., 2006; Mysinger *et al*., 2012; Radifar *et al*., 2013; Setiawati *et al*., 2014a) tidak dirancang untuk mengidentifikasi fitoestrogen yang sebagian besar merupakan ligan-ligan moderat pada REα (Matsuda et al., 2001; Setiawati et al., 2014b).

D. Studi Pendahuluan

Penelitian ini merupakan pengembangan dari penelitian sebelumnya dalam pengembangan protokol uji *in silico* untuk mengidentifikasi senyawa-senyawa sebagai ligan poten pada REα (Anita et al., 2012; Istyastono, 2015; Radifar et al., 2013b; Setiawati et al., 2014a). Protokol-protokol tersebut diverifikasi secara *in vitro* pada sel kanker payudara yang mempunyai REα berlebih dan berhasil mengidentifikasi celexocib sebagai ligan poten pada REα (Istyastono et al., 2015b). Meskipun demikian, protokol yang dikembangkan tidak mampu mengidentifikasi α-mangostin sebagai ligan moderat pada REα (Setiawati et al., 2014b, 2014a). Oleh karena sebagian besar fitoestrogen yang sudah teridentifikasi memiliki aktivitas moderat sebagai ligan pada REα (Istyastono and Yuniarti, 2016; Setiawati et al., 2014b; Yuliani et al., 2016), maka perlu dikembangkan protokol uji *in silico* yang mampu mengenali ligan-ligan dengan aktivitas moderat pada REα. Secara komprehensif, peta jalan penelitian ini dipaparkan pada Gambar 2.1

Terinspirasi oleh peningkatan kemampuan prediksi dengan konstruksi pohon keputusan pascapenapisan virtual yang menggunakan Sidik jari Interaksi Protein-Ligan (SIPL) sebagai deskriptor (Istyastono, 2015) dan teori "*lock-and-key*" (Koshland, 1994), pada tahun pertama Penelitian Berbasis Kompetensi ini dilakukan konstruksi awal basis data fitoestrogen hasil studi literatur (Istyastono and Yuniarti, 2016) dan konstruksi protokol uji *in silico* yang dilengkapi pohon keputusan setelah simulasi penambatan molekuler menggunakan PLANTS1.2 (Korb et al., 2009) dan identifikasi SIPL menggunakan PyPLIF (Radifar et al., 2013b, 2013a) yang menggunakan ansambel SIPL sebagai deskriptor. Protokol ini langsung digunakan untuk menapis 78.181 senyawa bahan alam yang dikelola ZINC15 (Sterling and Irwin, 2015). Hasil validasi retrospektif menunjukkan bahwa protokol baru yang disusun memiliki kualitas prediksi yang meningkat secara signifikan dengan nilai *F-measure* (Desaphy et al., 2013) 0,773. Selain itu, hasil penapisan prospektif berhasil mengidentifikasi 3.164 senyawa berpotensi sebagai ligan poten pada REα.



Gambar 2.1. Peta jalan penelitian yang diusulkan dari tahun 2016 hingga tahun 2018.

Pada tahun ke-2 ini dilakukan penapisan prospektif pada basis data fitoestrogen (Istyastono and Yuniarti, 2016) dan verifikasi secara *in vitro* beberapa senyawa terpilih dari penapisan prospektif pada basis data fitoestrogen maupun dari 3.164 senyawa berpotensi sebagai ligan poten pada REα hasil penapisan pada tahun pertama. Pada tahun ke-2 ini juga dilakukan pengembangan dan validasi retrospektif protokol *in silico* untuk mengidentifikasi senyawa sebagai ligan moderat pada REα. Protokol ini akan digunakan untuk menapis basis data fitoestrogen (Istyastono and Yuniarti, 2016) dan senyawa bahan alam yang dikelola ZINC15 (Sterling and Irwin, 2015) di luar senyawa-senyawa yang sudah teridentifikasi sebagai ligan poten pada REα sebelumnya. Pada tahun ke-3 akan dilakukan verifikasi secara *in vitro* beberapa senyawa terpilih dari penapisan prospektif sebagai ligan moderat pada REα hasil penapisan pada tahun ke-2.

Kebaruan yang dihasilkan pada kegiatan penelitian ini ada 3 hal yaitu: (i) Protokol uji *in silico* tervalidasi dengan kualitas prediksi yang jauh lebih baik daripada protokol yang sudah ada untuk identifikasi ligan poten dan moderat pada REα; (ii) Senyawa-senyawa fitoestrogen dengan aktivitas poten maupun moderat sebagai ligan pada REα; (iii) Implementasi baru teori “lock-and-key” pada kimia komputasi. Adapun pustaka-pustaka primer, terkini dan relevan dengan penelitian yang diusulkan ini adalah: (de Graaf et al., 2011; Istyastono et al., 2015b, 2015a; Mysinger et al., 2012; Radifar et al., 2013b, 2013a; Setiawati et al., 2014a; Sterling and Irwin, 2015; Yuliani et al., 2016).

BAB 3. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

A. Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah pengembangan protokol tervalidasi secara retrospektif dan prospektif untuk **mengidentifikasi fitoestrogen dalam senyawa bahan alam lain sebagai ligan poten maupun moderat pada REα**. Dalam penelitian ini juga dilakukan uji **verifikasi *in vitro*** untuk mengetahui potensi senyawa-senyawa tersebut untuk dikembangkan sebagai **agen kemoprevensi dalam pengobatan kanker payudara**.

B. Manfaat Penelitian

Aplikasi *computer aided drug discovery* yang digunakan dalam penelitian ini berlisensi dan tidak berbayar sehingga dapat digunakan oleh peneliti pengembangan agen kemoprevensi untuk kanker payudara yang berasal dari senyawa fitoestrogen dari bahan alam. Luaran langsung dari penelitian ini adalah **protokol tervalidasi untuk identifikasi senyawa fitoestrogen dari bahan alam sebagai ligan pada REα**. Dalam penelitian ini, diharapkan akan didapat korelasi *in silico* dan *in vitro* melalui verifikasi uji *in vitro* sehingga memungkinkan ditentukan Hubungan Kuantitatif Struktur Aktivitas (HKSA) senyawa-senyawa tersebut pada ligan REα. Luaran tidak langsung dari hasil penelitian ini adalah **publikasi ilmiah pada jurnal internasional bereputasi** serta **buku ajar ilmiah**.

BAB 4. METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

Uji *in silico*: Target virtual dari protokol penapisan virtual berbasis struktur (PVBS) berupa berkas `protein.mol2` dan `water.mol2` serta berkas konfigurasi `water_plantsconfig` dari hasil penelitian Anita *et al.* (Anita et al., 2012; Setiawati et al., 2014a). Berkas konfigurasi `config.txt` untuk menjalankan aplikasi identifikasi sidik jari interaksi PyPLIF dari hasil penelitian Radifar *et al. (Radifar et al., 2013a)*. Ligan-ligan moderat sejumlah 520 senyawa dan *decoy*-nya sejumlah 20685 senyawa dalam format `.smi` yang dikelola dalam DUD-e (Mysinger et al., 2012). Seperangkat alat kimia medisinal komputasi setidaknya setara dengan yang digunakan Setiawati *et al.* (Setiawati et al., 2014a) berupa laboratorium virtual dengan prosesor Intel Xeon 2.66 GHz *dual core* dan *random access memory* (RAM) 3 GB terinstal sistem operasi Linux version 2.6.32-30-generic (Ubuntu 10.04 Lucid) dan aplikasi-aplikasi berikut: Open Babel 2.2.3 (O'Boyle et al., 2011), SPORES (ten Brink and Exner, 2009), PLANTS1.2 (Korb et al., 2009, 2007), PyMOL 1.2r1 (Lill and Danielson, 2011), PyPLIF (Radifar et al., 2013a; Salentin et al., 2014) dan R 3.3.0 (R Core Team, 2016).

Uji *in vitro*: Senyawa-senyawa fitoestrogen yaitu genistein, daidzein, genistin, dan daidzin (Matsuda et al., 2001) akan digunakan sebagai senyawa uji untuk observasi awal korelasi antara uji *in silico* dan *in vitro*. Pelarut DMSO (Merck), media tumbuh sel kanker T47D yang terdiri atas Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) yang mengandung *Fetal Bovine Serum* (FBS) 10% (v/v) (Gibco), dan antibiotik penisilin-streptomisin 1 %(v/v) (Gibco), Reagen MTT (3-*[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5 difenil tertazolium bromide*) (50 mg MTT dan 10 mL PBS), pelarut *phoshat buffer saline* (PBS) 1X pH 7,4 (dibuat dengan melarutkan 8 g NaCl; 0,2 g KCl; 0,2 g KH_2PO_4; dan 1,15 g Na_2HPO_4 dalam 1 liter akuades), reagen *stopper* yang mengandung sodium duodesil sulfat (SDS) 10% dalam 0,01 N HCl dan tripsin 0,5 %, *tryptan blue*, dan aquabidest, antibodi anti-human REα (Thermo Scientific Lab Vision), *biotinylated universal secondary* antibody (Lab Vision), xylol, etilen dan *hematoxylin* (Dako). *Treated tissue culture dish* diameter 10 cm (Iwaki), 96 *well-plate* (Iwaki), 24 *well-plate*

(Iwaki), 6 *well-plate* (Iwaki), *cover slip* (Thermanox® Plastic Coverslips), *sentrifuge tube* (Brand), *object-glass*, inkubator CO_2 (Heraeus), sentrifus (Sorvall® Legend RT), *Laminar air flow cabinet*, mikropipet (Gilson), *yellow-tip*, *blue-tip*, pinset, autoklaf, hemositometer (Nebauer), mikroskop inverted (Axiovert 25), ELISA *reader* (Biorad), mikroskop fluoresensi (Zeiss MC 80), kamera digital (Canon Power Shoot A 430, 4.0 mega pixels), mikroskop cahaya (Canon).

B. Cara Penelitian

Penelitian yang dilakukan menggunakan desain penelitian eksperimental dengan pendekatan kimia medisinal komputasi (simulasi pemodelan molekul). Teknik pengumpulan data yang digunakan adalah simulasi penambatan molekuler senyawa uji virtual pada target virtual berupa struktur REα. Analisis statistik berupa penghitungan nilai faktor pengayaan (*enrichment factor* (EF)), EF pada 1% *false positives* ($EF_{1\%}$) dan *F-measure* digunakan untuk mengetahui validitas protokol uji yang dikembangkan dan menentukan senyawa pembanding virtual (Cannon et al., 2007). Senyawa-senyawa fitoestrogen yaitu genistein, daidzein, genistin, dan daidzin (Matsuda *et al*., 2001) akan digunakan sebagai senyawa uji untuk observasi awal korelasi antara uji *in silico* dan *in vitro*. Penelitian *in vitro* dilakukan menggunakan desain penelitian eksperimental murni dengan menggunakan teknik uji sitotoksik pada sel kanker T47D dengan metode (3-(3,4-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida) dilanjutkan dengan uji apoptosis dan uji imunositokimia dengan target protein REα. Analisis hasil statistik dilakukan untuk menentukan IC_{50} menggunakan regresi linier 4 parameter dengan program R. Uji t satu arah dilakukan terhadap presentase (%) sel apoptosis akibat perlakuan senyawa ligan moderat (Tahun II) atau ligan poten (Tahun III) dibandingkan dengan senyawa pembanding (Tamoxifen).

BAB 5. HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI

Pada akhir tahun ke-3 ini, telah selesai dilakukan validasi retrospektif untuk identifikasi ligan poten maupun moderat untuk REα dan dilakukan *uji vitro* genistein, daidzein, genistin dan daidzin dalam mempengaruhi ekspresi REα. untuk verifikasi. Sebagai tambahan juga uji *in vitro* ekstrak tempe yang diketahui mengandung senyawa-senyawa tersebut dan memiliki kemampuan sitotoksik yang diduga terkait dengan REα (Yuliani et al., 2016). Hasil validasi retrospektif untuk identifikasi ligan moderat mampu diperoleh protokol PVBS dengan nilai EF = 196,749 dan *F-measure* = 0,751.

Berdasarkan validasi PVBS pada tahun ke-1 dan ke-2, pada tahun ke-3 ini dikembangkan juga aplikasi dengan antarmuka grafis (*graphical user interface*/GUI) uji *in silico* untuk menguji apakah suatu senyawa berdasar gambar struktur 2D-nya merupakan ligan atau bukan pada REα. Jika sebuah senyawa oleh aplikasi tersebut teridentifikasi sebagai ligan, aplikasi akan melaporkan apakah senyawa tersebut masuk kategori ligan moderat atau ligan poten pada REα. Hasil validasi ligan moderat, pengembangan aplikasi GUI serta hasil verifikasi *in vitro* menggunakan beberapa senyawa-senyawa fitoestrogen dari basis data yang dikembangkan pada tahun ke-1 (Istyastono and Yuniarti, 2016), yaitu genistein dan daidzein serta glikosidanya genistin dan daidzin.

Capaian luaran dari penelitian yang dilaksanakan selama 3 (tiga) tahun ini secara keseluruhan adalah berupa 3 (tiga) publikasi di jurnal internasional terindeks basis data bereputasi, 2 (dua) buku nasional ber-ISBN, dan 1 (satu) publikasi di jurnal nasional terakreditasi. Berikut adalah luaran publikasi ilmiah di jurnal internasional: (i) “Optimizing structure-based virtual screening protocol to identify phytochemicals as cyclooxygenase-2 inhibitors” di *Indonesian Journal of Pharmacy* (terindeks Clarivate Analytics (Thomson Reuters)) pada tahun 2016; (ii) “Binary quantitative structure-activity relationship analysis in retrospective structure based virtual screening campaigns targeting estrogen receptor alpha” di *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research* (terindeks SCOPUS) pada tahun 2017; dan (iii) “Development of a graphical user interface application to identify marginal and potent ligands for estrogen receptor alpha” di *Indonesian*

Journal of Chemistry (terindeks SCOPUS) dengan status saat ini masuk pada "List of the accepted articles for future issues" dan dapat diakses pada tautan https://journal.ugm.ac.id/ijc/article/view/34561/22116. Berikut adalah luaran buku nasional ber-ISBN: (i) "Uji Statistik di Ilmu Farmasi dengan Program Statistika Komputasional R" (ISBN: 978-602-74273-9-6) yang terbit tahun 2016; dan (ii) Rancangan Obat dan Penapisan Virtual Berbasis Struktur (ISBN: 978-6025607-52-3) yang terbit pada tahun 2018. Publikasi ilmiah di jurnal nasional terakreditasi berjudul "Construction of Three Dimensional Structures of Phytoestrogens Converted From SMILES String Representations For Simulations Using PLANTS Docking Software" yang terbit tahun 2016 dapat diakses di tautan https://jurnal.ugm.ac.id/TradMedJ/article/view/12820/9158.Selain luaran-luran berupa karya ilmiah tersebut, juga diperoleh capaian sebagai bagian dari penelitian ini berupa kesempatan menjadi pemakalah dan *invited speaker* dalam temu ilmiah nasional/internasional pada tahun 2016 dan 2017, serta menjadi *visiting lecturer* (*assistant professor*) di Vrije Universiteit Amsterdam.

BAB 7. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Diperoleh aplikasi GUI tervalidasi yang *robust* untuk identifikasi ligan pada REα.

B. Saran

Dilakukan pelatihan-pelatihan untuk diseminasi aplikasi GUI yang dikembangkan untuk mendorong penemuan fitoestrogen baru. Dilanjutkan pula mengembangkan aplikasi *online* serta tahapan-tahapan penelitian lanjutan dikaitkan dengan COX-2 dan MMP-9 untuk penemuan dan pengembangan obat penyembuh luka bagi penderita diabetes.

DAFTAR PUSTAKA

Ali, S., Coombes, R.C., 2000. Estrogen receptor alpha in human breast cancer: occurrence and significance. J. Mammary Gland Biol. Neoplasia 5, 271–281.

Anita, Y., Radifar, M., Kardono, L., Hanafi, M., Istyastono, E.P., 2012. Structure-based design of eugenol analogs as potential estrogen receptor antagonists. Bioinformation 8, 901–906.

Anita, Y., Sundowo, A., Dewi, N.L.P., Filailla, E., Mulyani, H., Risdian, C., Banjarnahor, S., Hanafi, M., Istyastono, E.P., 2015. Biotransformation of Eugenol to Dehydroeugenol Catalyzed by Brassica juncea Peroxidase and its Cytotoxicity Activities. Procedia Chem. 16, 265–271.

Balunas, M.J., Su, B., Brueggemeier, R.W., Kinghorn, A.D., 2008. Xanthones from the botanical dietary supplement mangosteen (Garcinia mangostana) with aromatase inhibitory activity. J. Nat. Prod. 71, 1161–1166.

Brooks, S.C., Locke, E.R., Soule, H.D., 1973. Estrogen Receptor in a Human Cell Line (MCF-7) from Breast Carcinoma. J. Biol. Chem. 248, 6251–6253.

Cannon, E.O., Amini, A., Bender, A., Sternberg, M.J.E., Muggleton, S.H., Glen, R.C., Mitchell, J.B.O., 2007. Support vector inductive logic programming outperforms the naive Bayes classifier and inductive logic programming for the classification of bioactive chemical compounds. J. Comput. Aided Mol. Des. 21, 269–280.

de Graaf, C., Kooistra, A.J., Vischer, H.F., Katritch, V., Kuijer, M., Shiroishi, M., Iwata, S., Shimamura, T., Stevens, R.C., de Esch, I.J.P., Leurs, R., 2011. Crystal structure-based virtual screening for fragment-like ligands of the human histamine H(1) receptor. J. Med. Chem. 54, 8195–8206.

Desaphy, J., Raimbaud, E., Ducrot, P., Rognan, D., 2013. Encoding protein-ligand interaction patterns in fingerprints and graphs. J. Chem. Inf. Model. 53, 623–637.

Desta, Z., Ward, B.A., Soukhova, N. V, Flockhart, D.A., 2004. Comprehensive Evaluation of Tamoxifen Sequential Biotransformation by the Human Cytochrome P450 System in Vitro: Prominent Roles for CYP3A and CYP2D6. J. Pharmacol. Exp. Ther. 310, 1062–1075.

Dixon, R.A., 2004. Phytoestrogens. Annu. Rev. Plant Biol. 55, 225–261.

Grattan, B.J., 2013. Plant sterols as anticancer nutrients: evidence for their role in breast cancer. Nutrients 5, 359–387.

Hanstein, B., Djahansouzi, S., Dall, P., Beckmann, M.W., Bender, H.G., 2004. Insights into the molecular biology of the estrogen receptor define novel therapeutic targets for breast cancer. Eur. J. Endocrinol. 150, 243–255.

Harvey, J.M., Clark, G.M., Osborne, C.K., Allred, D.C., 1999. Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. J. Clin. Oncol. 17, 1474–1481.

Helferich, W.G., Andrade, J.E., Hoagland, M.S., 2008. Phytoestrogens and breast cancer: a complex story. Inflammopharmacology 16, 219–226.

Hopert, A.C., Beyer, A., Frank, K., Strunck, E., Wünsche, W., Vollmer, G., 1998. Characterization of estrogenicity of phytoestrogens in an endometrial-derived experimental model. Environ. Heal. Perspect. 106, 581–586.

Huang, N., Shoichet, B.K., Irwin, J.J., 2006. Benchmarking sets for molecular docking. J. Med. Chem. 49, 6789–6801.

Istyastono, E.P., 2015. Employing recursive partition and regression tree method to increase the quality of structure-based virtual screening in the estrogen receptor alpha ligands identification. Asian J. Pharm. Clin. Res. 8, 21–24.

Istyastono, E.P., 2016. Optimizing structure-based virtual screening protocol to identify phytochemicals as cyclooxygenase-2 inhibitors. Indones. J. Pharm. 27, 163–173.

Istyastono, E.P., Kooistra, A.J., Vischer, H., Kuijer, M., Roumen, L., Nijmeijer, S., Smits, R., de Esch, I., Leurs, R., de Graaf, C., 2015a. Structure-Based Virtual Screening for Fragment-Like Ligands of the G Protein-Coupled Histamine H4 Receptor. Med. Chem. Commun. 6, 1003–1017.

Istyastono, E.P., Nijmeijer, S., Lim, H.D., van de Stolpe, A., Roumen, L., Kooistra, A.J., Vischer, H.F., de Esch, I.J.P., Leurs, R., de Graaf, C., 2011. Molecular Determinants of Ligand Binding Modes in the Histamine H4 Receptor: Linking Ligand-Based Three-Dimensional Quantitative Structure−Activity Relationship (3D-QSAR) Models to in Silico Guided Receptor Mutagenesis Studies. J. Med. Chem. 54, 8136–8147.

Istyastono, E.P., Riswanto, F.D.O., Yuliani, S.H., 2015b. Computer-aided drug repurposing: a cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib as a ligand for estrogen receptor alpha. Indones. J. Chem. 15, 274–280.

Istyastono, E.P., Yuniarti, N., 2016. Construction of three dimensional structures of phytoestrogens converted from smiles string representations for simulations using PLANTS docking software. Trad. Med. J. 21, 69–76.

Kooistra, A.J., Roumen, L., Leurs, R., de Esch, I.J.P., de Graaf, C., 2013. From heptahelical bundle to hits from the haystack: structure-based virtual screening for GPCR ligands. Methods Enzym. 522, 279–336.

Korb, O., Stützle, T., Exner, T.E., 2007. An ant colony optimization approach to flexible protein–ligand docking. Proc. IEEE Swarm Intell. Symp. 1, 115–134.

Korb, O., Stützle, T., Exner, T.E., 2009. Empirical scoring functions for advanced protein-ligand docking with PLANTS. J. Chem. Inf. Model. 49, 84–96.

Koshland, D.E., 1994. The key–lock theory and the induced fit theory. Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 33, 2375–2378.

Lill, M.A., Danielson, M.L., 2011. Computer-aided drug design platform using PyMOL. J. Comput. Aided Mol. Des. 25, 13–19.

Matsuda, H., Shimoda, H., Morikawa, T., Yoshikawa, M., 2001. Phytoestrogens from the roots of Polygonum cuspidatum (Polygonaceae): structure-requirement of hydroxyanthraquinones for estrogenic activity. Bioorg. Med. Chem. Lett. 11, 1839–1842.

Matsuda, N., Teramae, H., Futatsugi, M., Takano, K.-I., Yamamoto, S., Tomita, K., Suzuki, T., Yokoo, H., Koike, K., Hattori, Y., 2010. Up-regulation of histamine H4 receptors contributes to splenic apoptosis in septic mice: counteraction of the antiapoptotic action of nuclear factor-kappaB. J. Pharmacol. Exp. Ther. 332, 730–737.

Mouridsen, H., Giobbie-Hurder, A., Goldhirsch, A., Thürlimann, B., Paridaens, R., Smith, I., Mauriac, L., Forbes, J.F., Price, K.N., Regan, M.M., Gelber, R.D., Coates, A.S., 2009. Letrozole therapy alone or in sequence with tamoxifen in women with breast cancer. N. Engl. J. Med. 361, 766–776.

Mysinger, M.M., Carchia, M., Irwin, J.J., Shoichet, B.K., 2012. Directory of

Useful Decoys, Enhanced (DUD-E): Better Ligands and Decoys for Better Benchmarking. J. Med. Chem. 55, 6582–6594.
O'Boyle, N.M., Banck, M., James, C.A., Morley, C., Vandermeersch, T., Hutchison, G.R., 2011. Open Babel: An open chemical toolbox. J. Cheminform. 3, 33–47.
Pathania, S., Ramakrishnan, S.M., Bagler, G., 2015. Phytochemica: A platform to explore phytochemicals of medicinal plants. Database 10.1093/da, 1–8.
R Core Team, 2016. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna. http://www.r-project.org.
Radifar, M., Yuniarti, N., Istyastono, E.P., 2013a. PyPLIF: Python-based Protein-Ligand Interaction Fingerprinting. Bioinformation 9, 325–328.
Radifar, M., Yuniarti, N., Istyastono, E.P., 2013b. PyPLIF-assisted redocking indomethacin-(R)-alpha-ethyl-ethanolamide into cyclooxygenase-1. Indones. J. Chem. 13, 283–286.
Rognan, D., 2012. Fragment-Based Approaches and Computer-Aided Drug Discovery. Top. Curr. Chem. 317, 201–222.
Salentin, S., Haupt, V.J., Daminelli, S., Schroeder, M., 2014. Polypharmacology rescored: Protein-ligand interaction profiles for remote binding site similarity assessment. Prog. Biophys. Mol. Biol. 116, 174–186.
Setiawati, A., Riswanto, F.D.O., Yuliani, S.H., Istyastono, E.P., 2014a. Retrospective validation of a structure-based virtual screening protocol to identify ligands for estrogen receptor alpha and its application to identify the alpha-mangostin binding pose. Indo. J. Chem. 14, 103–108.
Setiawati, A., Riswanto, F.O.D., Yuliani, S.H., Istyastono, E.P., 2014b. Anticancer activity of mangosteen pericarp dry extract against MCF-7 breast cancer cell line though estrogen receptor-α. Indones. J. Pharm. 25, 119–124.
Shiau, A.K., Barstad, D., Loria, P.M., Cheng, L., Kushner, P.J., Agard, D.A., Greene, G.L., 1998. The structural basis of estrogen receptor/coactivator recognition and the antagonism of this interaction by tamoxifen. Cell 95, 927–937.
Song, X., Pan, Z., 2012. Estrogen receptor-beta agonist diarylpropionitrile counteracts the estrogenic activity of estrogen receptor-alpha agonist propylpyrazole-triol in the mammary gland of ovariectomized Sprague Dawley rats. J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 130, 26–35.
Sterling, T., Irwin, J.J., 2015. ZINC 15 - Ligand Discovery for Everyone. J. Chem. Inf. Model. 55, 2324–2337.
ten Brink, T., Exner, T.E., 2009. Influence of protonation, tautomeric, and stereoisomeric states on protein-ligand docking results. J. Chem. Inf. Model. 49, 1535–1546.
Thornton, M.J., 2013. Estrogens and aging skin. Dermatoendocrinol. 5, 264–270.
Tie, L., An, Y., Han, J., Xiao, Y., Xiaokaiti, Y., Fan, S., Liu, S., Chen, A.F., Li, X., 2013. Genistein accelerates refractory wound healing by suppressing superoxide and FoxO1/iNOS pathway in type 1 diabetes. J. Nutr. Biochem. 24, 88–96.
Varinska, L., Gal, P., Mojzisova, G., Mirossay, L., Mojzis, J., 2015. Soy and Breast Cancer: Focus on Angiogenesis. Int. J. Mol. Sci. 16, 11728–11749.
Yuliani, S.H., Gani, M.R., Istyastono, E.P., Riswanto, F.D.O., 2018. Optimization of genistein and daidzein extraction from a tempeh-fermented product of

soybean. J. Pharm. Pharmacogn. Res. 6, 231–241.
Yuliani, S.H., Istyastono, E.P., Riswanto, F.D.O., 2016. The cytotoxic activity on T47D breast cancer cell of genistein-standardized ethanolic extract of tempeh - A fermented product of soybean (Glycine max). Orient. J. Chem. 32, 1619–1624.

LAMPIRAN-LAMPIRAN

1. Luaran-luaran berupa naskah publikasi ilmiah selama 3 tahun.
2. Luaran-luara berupa buku nasional ber-ISBN selama 3 tahun. Dilampirkan dari halaman muka (atau balik muka) hingga daftar isi.
3. Luaran-luaran lain terkait penelitian ini selama 3 tahun.

Indonesian J. Pharm. Vol. 27 No. 3 : 163 – 173
ISSN-p : 2338-9427
DOI: 10.14499/indonesianjpharm27iss3pp163

Research Article

OPTIMIZING STRUCTURE-BASED VIRTUAL SCREENING PROTOCOL TO IDENTIFY PHYTOCHEMICALS AS CYCLOOXYGENASE-2 INHIBITORS

Enade Perdana Istyastono

Division of Drug Design and Discovery, Faculty of Pharmacy and Center for Environmental Studies Sanata Dharma University, Yogyakarta, Indonesia. Kampus III Universitas Sanata Dharma, Paingan, Maguwoharjo, Depok, Yogyakarta 55284

Submitted: 14-04-2016
Revised: 13-06-2016
Accepted: 28-07-2016

*Corresponding author
Enade Perdana Istyastono

Email:
enade@usd.ac.id

ABSTRACT

By employing Databases of Useful Decoys (DUD) and its enhanced version (DUD-E), several attempts to construct validated Structure-based Virtual Screening (SBVS) protocols to identify cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors have been performed. Both databases tagged active COX-2 inhibitors for compounds with IC_{50} values < 1μM. In the search for phytochemicals as natural COX-2 inhibitors, however, most of their IC_{50} values are in the micromolar range, which will likely be identified as non-inhibitors for COX-2 by the available SBVS protocols. In this article, validation of an SBVS protocol by adding marginal active COX-2 inhibitors from DUD-E as active compounds is presented. Binary quantitative-structure activity relationship analysis by using recursive partition and regression tree method was performed subsequently to optimize the predictive ability of the protocol. The enrichment factor and the *F*-measure values of the optimized protocol could reach 44.78 and 0.47, respectively. The optimized protocol could identify 1 out of 9 phytochemicals as COX-2 inhibitors.

Key words: Structure-based virtual screening (SBVS), phytochemical, cyclooxygenase-2 (COX-2).

INTRODUCTION

Enzyme cyclooxygenase-2 (COX-2) plays important role in several inflammation-related pathophysiological processes (Chakraborti *et al.*, 2010; Penning *et al.*, 1997; Willoughby *et al.*, 2000). Moreover, besides being employed in the therapy for inflammation, a blockbuster COX-2 selective inhibitor celecoxib (Maggon, 2005; Penning *et al.*, 1997; Sadée and Bohn, 2006) was reported could interfere the apoptosis pathways in cancer (Jendrossek, 2013), bind to estrogen receptor alpha (Dai *et al.*, 2012; Istyastono *et al.*, 2015[a]) and reducing scar formation during wound healing processes (Wilgus *et al.*, 2004, 2003). Targeting COX-2 in drug discovery and development programs has therefore become of considerable interest, which has also been shown by several attempts to construct validated *in silico* protocols, including Structure-Based Virtual Screening (SBVS) protocols, and to employ the protocols to identify and design potent inhibitors for COX-2, not only by academia but also in companies related to drug discovery and development (Cappel *et al.*, 2015; Chakraborti *et al.*, 2010; Cianchi *et al.*, 2005; Kaserer *et al.*, 2015; Krüger and Evers, 2010; Larsson *et al.*, 2005; Pany *et al.*, 2013; Rao *et al.*, 2006; Yuniarti *et al.*, 2012). Together with the public availability of the COX-2 crystal structure by Kurumbail *et al.* (1996) followed by other novel crystal structures of COX-2 with different co-crystal ligands (Rowlinson *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2010[a]; Wang *et al.*, 2010[b]), the publicly available Databases of Useful Decoys (DUD) (Huang *et al.*, 2006) and the enhanced version of DUD (DUD-E) (Mysinger *et al.*, 2012) could serve as the sources of virtual targets, ligands and decoys to construct and retrospectively validate SBVS protocols to identify COX-2 inhibitors (Huang *et al.*, 2006; Mysinger *et al.*, 2012; Yuniarti *et al.*, 2011). Notably, both DUD and DUD-E required a compound could be identified as a potent COX-2 inhibitor if the compound showed IC_{50} as a COX-2 inhibitor < 1μM (Huang *et al.*, 2006; Mysinger *et al.*, 2012).

The search for COX-2 inhibitors has also involved natural products (Orlikova *et al.*, 2013; Pany *et al.*, 2013). Nevertheless, two most

Trad. Med. J., May – August 2016
Vol. 21(2), p 69-76
ISSN : 1410-5918

Submitted : 11-04-2016
Revised : 02-06-2016
Accepted : 21-07-2016

CONSTRUCTION OF THREE DIMENSIONAL STRUCTURES OF PHYTOESTROGENS CONVERTED FROM SMILES STRING REPRESENTATIONS FOR SIMULATIONS USING PLANTS DOCKING SOFTWARE

KONSTRUKSI STRUKTUR TIGA DIMENSI FITOESTROGEN HASIL KONVERSI DARI *SMILES STRING REPRESENTATIONS* UNTUK SIMULASI PENAMBATAN MOLEKULER MENGGUNAKAN *SOFTWARE* PLANTS

Enade Perdana Istyastono[1,*] and Nunung Yuniarti[2]
[1]Division of Drug Design and Discovery, Faculty of Pharmacy, Sanata Dharma University, Yogyakarta 55282, Indonesia
[2]Department of Pharmacology and Clinical Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Universitas Gadjah Mada, Sleman, Yogyakarta 55281, Indonesia

ABSTRACT

Phytoestrogens have some important biological effects and could be employed as medicinal resources, for example as cancer chemopreventive agents. Phytoestrogen is defined as a phytochemical that has estrogenic or anti estrogenic effects. However, there is no database providing comprehensive list of phytoestrogen structures. In computer-aided drug discovery, the database is required to perform virtual screening for retrospective validation and structure-based drug design. The research presented in this article attempted to collect a comprehensive list of phytoestrogen structures. Subsequently, the structures were prepared in their three dimensional structures using SPORES1.3 for molecular docking simulations using PLANTS1.2. The ready-to-dock structures were then stored online as phytoestrogens.zip and could be downloaded from http://molmod.org/phytoestrogens.zip. This database contains 30 ready-to-dock unique phytoestrogens with total of 53 different configurations.
Keywords: *Phytoestrogen, database, drug discovery, molecular docking*

ABSTRAK

Fitoestrogen merupakan senyawa memiliki aktivitas biologis penting bahkan seringkali berpotensi sebagai agen kemoprevensi kanker. Fitoestrogen didefinisikan sebagai senyawa-senyawa alami dari tanaman yang memiliki efek estrogenik atau anti estrogenik. Meskipun demikian, sejauh ini belum ditemui basis data yang menyediakan struktur-struktur fitoestrogen secara komprehensif. Hal ini dapat menghambat penemuan obat berbantukan komputer ketika ketersediaan basis data sangat penting untuk melakukan penapisan virtual guna validasi retrospektif atau perancangan obat berbasis struktur. Penelitian yang disampaikan di artikel ini mencoba mengumpulkan struktur-struktur fitoestrogen secara komprehensif dan melakukan preparasi untuk membuat struktur-struktur tersebut dalam bentuk tiga dimensi dengan aplikasi SPORES1.3 dan siap menjadi berkas masukan untuk simulasi penambatan molekuler PLANTS1.2. Struktur-struktur siap ditambatkan tersebut kemudian disimpan dalam jaringan sebagai phytoestrogens.zip dan bisa diunduh di http://molmod.org/phytoestrogens.zip. Database ini memuat 30 struktur fitoestrogen dengan total 53 konfigurasi yang berbeda yang siap menjadi input simulasi penambatan molekuler.
Kata kunci: *Fitoestrogen, basis data, penemuan obat, penambatan molekuler*

INTRODUCTION

Drugs discoveries have owed phytochemicals since they have become main resources for inspirations or even lead compounds in the early stages of the discovery and development (Brusotti *et al.*, 2014; Efferth and Koch, 2011). Currently, drug discovery targeting breast cancer has become of timely and considerable interest since there is no recent breakthrough in the therapy (Cardoso and Senkus, 2015). Screening campaigns on phytochemicals to discover breast cancer chemopreventive agents have been performed, since it is believed to be able to serve

Corresponding Author : Enade Perdana Istyastono
Email : enade@usd.ac.id

ASIAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL AND CLINICAL RESEARCH

INNOVARE ACADEMIC SCIENCES
Knowledge to Innovation

Vol 10, Issue 12, 2017

Online - 2455-3891
Print - 0974-2441

Research Article

BINARY QUANTITATIVE STRUCTURE-ACTIVITY RELATIONSHIP ANALYSIS IN RETROSPECTIVE STRUCTURE-BASED VIRTUAL SCREENING CAMPAIGNS TARGETING ESTROGEN RECEPTOR ALPHA

ENADE PERDANA ISTYASTONO[1], NUNUNG YUNIARTI[2], MAYWAN HARIONO[1], SRI HARTATI YULIANI[1], FLORENTINUS DIKA OCTA RISWANTO[1]*

[1]Department of Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Sanata Dharma University, Campus 3 Paingan, Maguwohardjo, Depok, Sleman, Yogyakarta 55282, Indonesia. [2]Department of Pharmacology and Clinical Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta 55281, Indonesia. Email: dikaocta@usd.ac.id

Received: 12 June 2017, Revised and Accepted: 29 August 2017

ABSTRACT

Objective: The objective of this study is to construct predictive unbiased structure-based virtual screening (SBVS) protocols to identify potent ligands for estrogen receptor alpha by combining molecular docking, protein-ligand interaction fingerprinting (PLIF), and binary quantitative structure-activity relationship (QSAR) analysis using recursive partition and regression tree method.

Methods: Employing the enhanced version of a directory of useful decoys, SBVS protocols using molecular docking simulations, and PLIF were constructed and retrospectively validated. To avoid bias, SMILES format of the compounds was used. The predictive abilities of the SBVS protocols were then compared based on the enrichment factor (EF) and the F-measure values.

Results: The SBVS protocols resulted in this research were SBVS_1 (employing docking scores of the best pose on every compound to rank the results and selecting compounds within 1% false positives as positive), SBVS_2 (employing decision tree resulted from the binary QSAR analysis using docking scores and PLIF bitstrings of the best pose of every compound as descriptors), and SBVS_3 (employing decision tree resulted from the binary QSAR analysis using ensemble PLIF of the selected poses from optimized docking score as the cutoff). The EF values of SBVS_1, SBVS_2, and SBVS_3 are 28.315, 576.084, and 713.472, respectively, while their F-measure values are 0.310, 0.573, and 0.769, respectively.

Conclusion: Highly predictive unbiased SBVS protocols to identify potent estrogen receptor alpha ligands were constructed. Further application in prospective screening is therefore highly suggested.

Keywords: Estrogen receptor alpha, Structure-based virtual screening, Recursive partition and regression tree, Molecular docking, Protein-ligand interaction fingerprinting.

© 2017 The Authors. Published by Innovare Academic Sciences Pvt Ltd. This is an open access article under the CC BY license (http://creativecommons.org/licenses/by/4. 0/) DOI: http://dx.doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10i12.20667

INTRODUCTION

Molecular interaction fingerprints (IFP) resulted from converting protein-ligand complexes into IFP bitstring were introduced in 2007 by Marcou and Rognan [1]. The IFP which is also known as the protein-ligand IFP (PLIF) has been successfully employed mainly in fragment-based drug discovery projects [1-6]. Inspired from IFP of Marcou and Rognan, an open-source Python implementation of the molecular IFP named PyPLIF was developed [7,8]. Different with the molecular IFP of Marcou and Rognan, PyPLIF uses non-proprietary Open Babel [9] library. Therefore, anyone can freely use, modify, and even develop PyPLIF depending on their purposes [7,10,11]. Since the original host of PyPLIF https://code.google.com/ [7] was shut down by Google, PyPLIF was relocated to GitHub (https://github.com/radifar/pyplif).

The distance between the PLIF of the predicted pose and the PLIF of the reference pose calculated using Tanimoto metric results in Tc-IFP [1] or Tc-PLIF [7], which could be used as alternative scoring functions in structure-based virtual screening (SBVS) campaigns [3,4,12-15]. Notably, this scoring function is a reference-dependent function, and the selection of the reference determines the predictive quality of the SBVS protocol [3,16]. Inspired by the lock-and-key theory [17,18] and the fact that some ligands could interact with their protein targets in more than one pose [19,20], the idea of ensemble PLIF (ensPLIF) which is reference independent and considering more than one plausible docking poses emerged (Fig. 1). After molecular docking simulations using PLANTS1.2 [21] followed by PLIF identification using PyPLIF [7], ensPLIF could be calculated in the following two subsequent steps: (i) Docking score-based pose selection for selecting the plausible docking poses, and (ii) counting the "on" interaction in selected poses followed by dividing it with all resulted docking poses for every interaction bitstring. Thus, ensPLIF for every interaction bitstring will be ranged from 0.000 to 1.000.

Aimed to provide highly predictive unbiased SBVS protocols to identify potent ERα ligands to present and to evaluate the application of ensPLIF in computer-aided drug discovery, retrospective SBVS campaigns targeting ERα by employing the dataset of ERα ligands, and their decoys provided by the enhanced version of database of useful decoys (DUD-E) [23] were performed. Previous attempts with the mol2 formats from DUD-E [23] showed that employing decision tree resulted from binary quantitative structure-activity relationship (QSAR) analysis using recursive partition and regression tree method (RPART) [24], and ChemPLP score as the docking score and PLIF bitstring as the descriptors had significantly better predictive ability to identify potent ERα ligands compared to the protocol that using only ChemPLP score [14]. Notably, instead of using the readily to be docked three-dimensional (3D) formats of compounds provided by DUD-E [23], in the research presented in this article, SMILES format was selected to avoid bias in ligand preparation steps [22,25]. Appended with ensPLIF, these retrospective campaigns resulted in three SBVS protocols: (i) Using ChemPLP score of the best pose of every screened

SHORT COMMUNICATION

Development of a Graphical User Interface Application to Identify Marginal and Potent Ligands for Estrogen Receptor Alpha

Nunung Yuniarti[1], Sudi Mungkasi[2], Sri Hartati Yuliani[3], and Enade Perdana Istyastono[3,*]

[1]*Department of Pharmacology and Clinical Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Universitas Gadjah Mada, Depok, Sleman, Yogyakarta 55281, Indonesia*

[2]*Department of Mathematics, Faculty of Science and Technology, Sanata Dharma University, Paingan, Maguwoharjo, Depok, Sleman, Yogyakarta 55282, Indonesia*

[3]*Faculty of Pharmacy, Sanata Dharma University, Paingan, Maguwoharjo, Depok, Sleman, Yogyakarta 55282, Indonesia*

Received April 5, 2018; Accepted July 16, 2018

ABSTRACT

Employing ensemble Protein-Ligand Interaction Fingerprints (ensPLIF) as descriptors in post retrospective Structure-Based Virtual Screening (SBVS) campaigns Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR) analysis has been proven to significantly increase the predictive ability in the identification of potent ligands for estrogen receptor alpha (ERα). In the research presented in this article, similar approaches have been performed to construct and retrospectively validate an SBVS protocol to identify marginal ligands for ERα. Based on both validated SBVS protocols, a graphical-user-interface (GUI) application to identify if a compound is a non-, moderate or potent ligand for ERα was developed. The GUI application was subsequently used to virtually screen genistin, genistein, daidzin, and daidzein, followed by in vitro *test employing a cytotoxic assay using 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) method.*

***Keywords**: Ensemble Protein-Ligand Interaction Fingerprints; Structure-Based Virtual Screening; estrogen receptor alpha; graphical-user-interface*

ABSTRAK

Pemanfaatan ansambel Sidik jari Interaksi Protein-Ligan (ensemble Protein-Ligand Interaction Fingerprints (ensPLIF)) sebagai deskriptor pada analisis Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas (HKSA) biner setelah Penapisan Virtual Berbasis Struktur (PVBS) telah terbukti meningkatkan secara signifikan kualitas identifikasi ligan poten untuk reseptor estrogen alfa (estrogen receptor alpha (ERα)). Pada penelitian yang dipaparkan pada artikel ini, pendekatan serupa dilakukan untuk mengembangkan dan melakukan validasi retrospektif protokol PVBS untuk identifikasi ligan moderat untuk ERα. Kedua protokol tersebut,kemudian dijadikan dasar pengembangan sebuah aplikasi antarmuka-pengguna-grafis (graphical-user-interface (GUI)) untuk mengidentifikasi apakah sebuah senyawa merupakan non ligan, ligan moderat atau ligan poten pada ERα. Aplikasi tersebut kemudian digunakan untuk penapisan secara virtual senyawa genistin, genistein, daidzin dan daidzein, yang dilanjutkan dengan verifikasi secara in vitro *dengan uji sitotoksik menggunakan metode 3-[4,5-dimetillthiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolium bromida (MTT).*

***Kata Kunci**: ansambel sidik jari interaksi protein-ligan; penapisan virtual berbasis struktur (PVBS); reseptor estrogen alfa; antarmuka-pengguna-grafis*

INTRODUCTION

Binary Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR) analysis of results from retrospective Structure-Based Virtual Screening (SBVS) campaigns could increase the prediction quality of the SBVS protocols [1-5]. The use of binary QSAR in SBVS was started with the successful attempt by [2] to increase the predictive ability of SBVS protocol to identify potent ligands for estrogen receptor alpha (ERα) [6-7]. Since then, the SBVS protocols using binary QSAR analysis incorporated in SBVS campaigns to identify marginal and potent ligands for cyclooxygenase-2 (COX-2) were developed with excellent predictive ability in retrospective studies using ligands and decoys collected by the enhanced version of Database of Useful Decoys (DUD-E) [4-5,7]. Notably, by employing ensemble Protein-Ligand Interaction Fingerprints (ensPLIF) as a newly introduced descriptor

* Corresponding author.
Email address : enade@usd.ac.id

DOI: 10.22146/ijc.34561

Accepted

Enade Perdana Istyastono

Uji Statistik di Ilmu Farmasi

dengan

Program Statistika Komputasional R

Program R merupakan lingkungan untuk pemrograman dengan bahasa pemrograman R yang didedikasikan untuk statistika komputasional. Program R yang bersifat lintas sistem operasi, gratis dan *open source* membuat program ini dapat berkembang dan dapat dimanfaatkan di bidang Ilmu Farmasi tanpa harus memikirkan biaya lisensi. Uji statistik generik seperti Uji T, analisis varians (ANAVA) satu jalan dan padanannya di statistikan non parametrik, analisis korelasi dan regresi linier bisa dipelajari dan dilakukan dalam waktu singkat di program R dengan bantuan buku ini. Analisis statistik untuk desain faktorial dan analisis regresi log-logistik 4 parameter untuk perhitungan nilai IC_{50} yang relatif *advanced* menggunakan program R juga dipaparkan di buku ini. Penulis buku ini, Enade Perdana Istyastono, Ph.D., Apt., adalah dosen mata kuliah Kimia Medisinal, *Computational Statistics* dan Metodologi Penelitian di Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma, Yogyakarta. Salah satu penelitian Enade yang menggunakan program R secara intensif mampu mengidentifikasi determinan molekuler pada reseptor histamin H_4 yang bertanggung jawab pada ikatan dengan ligannya yang dipublikasikan di *Journal of Medicinal Chemistry* (*impact factor* 2014 = 5,45).

SANATA DHARMA UNIVERSITY PRESS
Jl. Affandi, Gejayan (Mrican) Tromol Pos 29
Yogyakarta 55002; e-mail: *publisher@usd.ac.id*

appti

ISBN 978-602-74273-9-6
9 786027 427396
Buku Cetak & Ebook

SDUP

Uji Statistik di Ilmu Farmasi dengan Program Statistika Komputasional R

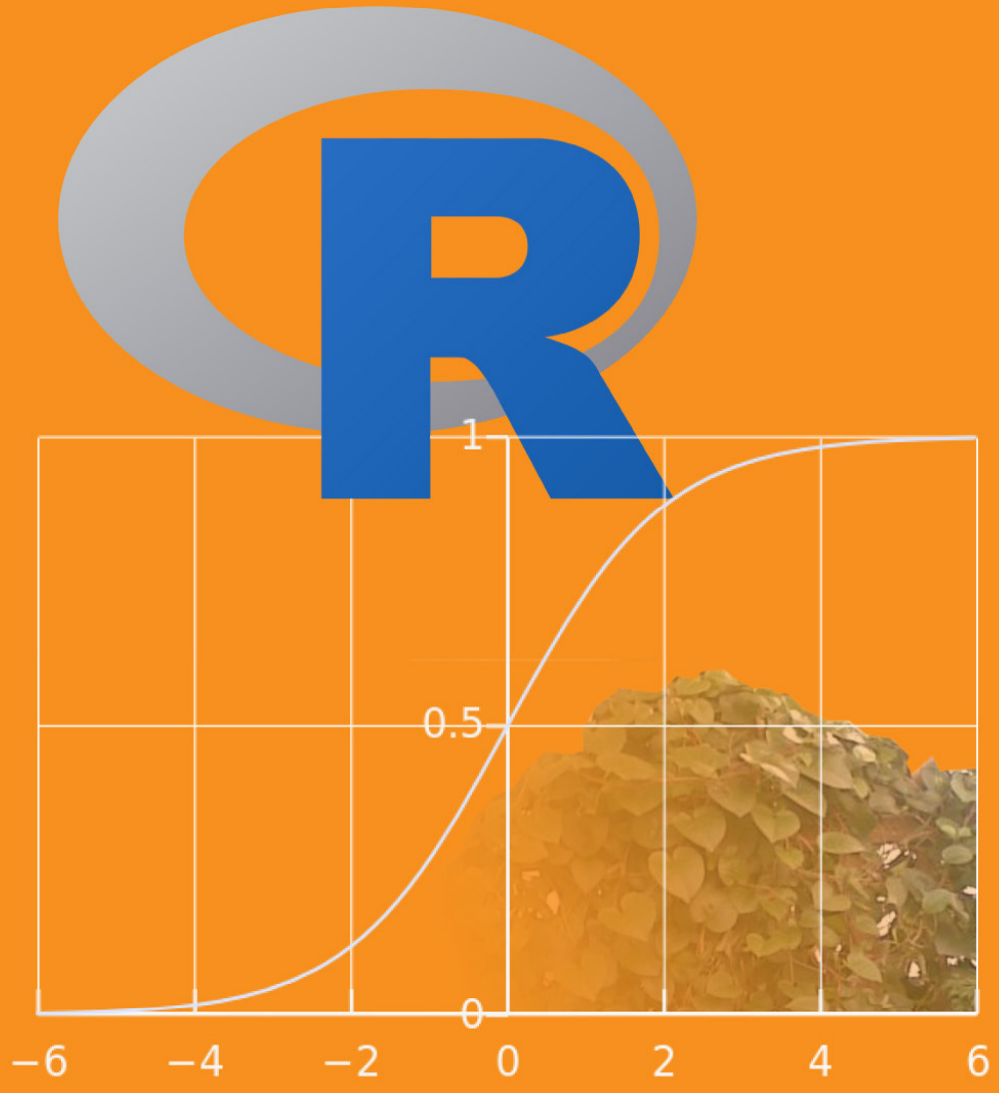
Enade Perdana Istyastono

Uji Statistik di Ilmu Farmasi

dengan

Program Statistika Komputasional R

Enade Perdana Istyastono



Uji Statistik di Ilmu Farmasi
dengan
Program Statistika Komputasional R

Enade Perdana Istyastono

Sanata Dharma
University Press

Rancangan Obat dan Penapisan Virtual Berbasis Struktur

Enade Perdana Istyastono, Ph.D., Apt.

Sanata Dharma University Press

Rancangan Obat dan Penapisan Virtual Berbasis Struktur

Copyright © 2018
Enade Perdana Istyastono, Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma.

Penulis
Enade Perdana Istyastono

Elektronik e-Book:
ISBN 978-602-5607-52-3
EAN 9-786025-607523

Cetakan Pertama, 2018
viii; 131 hlm.; 15,5 x 23 cm.

Ilustrasi Sampul &Tata Letak
Thoms

PENERBIT:

SANATA DHARMA UNIVERSITY PRESS
Lantai 1 Gedung Perpustakaan USD
Jl. Affandi (Gejayan) Mrican,
Yogyakarta 55281
Telp. (0274) 513301, 515253;
Ext.1527/1513; Fax (0274) 562383
e-mail: *publisher@usd.ac.id*

Sanata Dharma University Press (SDUP) berlambangkan daun teratai coklat bersudut lima dengan sebuah obor yang menyala merah, sebuah buku dengan tulisan "Ad Maiorem Dei Gloriam" dengan tulisan Sanata Dharma University Press berwarna putih di dalamnya.

Adapun artinya sebagai berikut.
Teratai lambang kemuliaan dan sudut lima: Pancasila.
Obor: hidup dengan semangat yang menyala-nyala.
Buku yang terbuka: SDUP selalu dan siap berbagi ilmu pengetahuan.
Teratai warna coklat: sikap dewasa dan matang. "Ad Maiorem Dei Gloriam": demi kemuliaan Allah yang lebih besar. Tulisan Sanata Dharma University Press berwarna putih: penerbit ini senantiasa membawa terang dan kebaikan bagi dunia ilmu pengetahuan.

Sanata Dharma University Press anggota APPTI
(Asosiasi Penerbit Perguruan Tinggi Indonesia)

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang.
Dilarang memperbanyak karya tulis ini dalam bentuk dan dengan cara apa pun, termasuk fotokopi, tanpa izin tertulis dari penerbit.

Isi buku sepenuhnya menjadi tanggungjawab penulis.

Sertifikat

Diberikan Kepada :

ENADE PERDANA ISTYASTONO

Pemakalah Oral

SEMINAR NASIONAL KIMIA (SNK) 2016

"Pengembangan Kimia Berbasis Kearifan dan Sumber Daya Alam Lokal:

Integrasi Riset, Pendidikan dan Industri"

Yang diselenggarakan oleh Program Studi Kimia FMIPA Universitas Mataram

Pada tanggal 10 - 11 Agustus 2016

Di Puri Indah Hotel Conventions, Mataram - Lombok

Mataram, 10 Agustus 2016

Ketua Panitia

PANITIA SNK - FMIPA UNRAM 2016

Dr. Maria Ulfa

Dekan FMIPA

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI UNIVERSITAS MATARAM FAKULTAS

Prof. Ir. Surya Hadi, M.Sc. Ph.D.

Organized by
Faculty of Pharmacy
Universitas Hasanuddin

Emerging **Innovations**
in **Drug Discovery,**
Development and **Delivery**

3rd MiPS
Third Makassar International Symposium on Pharmaceutical Sciences

CERTIFICATE

This is to certify that

Enade Perdana Istyastono

as Presenter

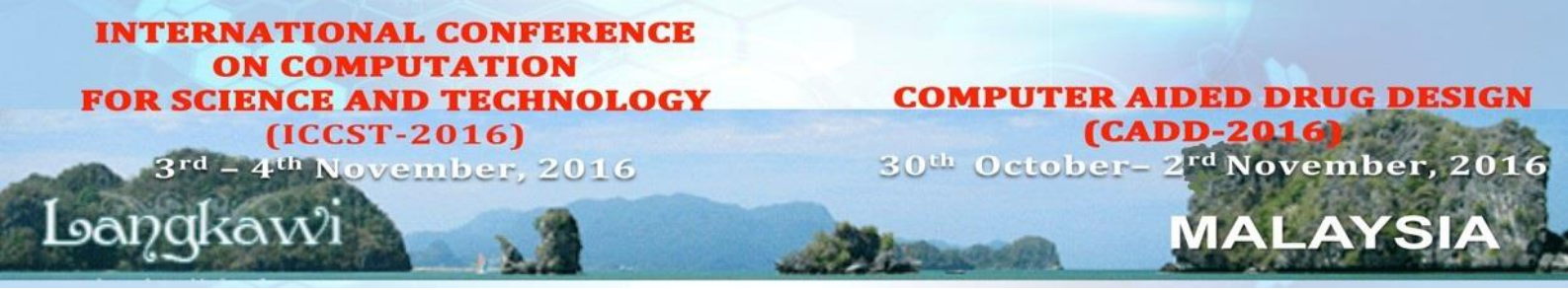
has participated in
Third Makassar International Symposium on Pharmaceutical Sciences 2017
on November 3-4 ,2017 at Makassar, South Sulawesi, Indonesia.

Prof. Dr. Dwia Aries Tina Pulubuhu, M.A
Rector of Universitas Hasanuddin

Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt.
Dean of Faculty of Pharmacy

Firzan Nainu, Ph.D., Apt.
Chair

SKP IAI No. 235/SK-SKP/PP-IAI/IX/2017 Speaker 4.5 SKP, Moderator 3 SKP, Committee 3 SKP, Presenter 5 SKP dan Participant 12.5 SKP.



8 August 2016

Dr. Enade Istyastono,
Universitas Sanata Dharma,
Indonesia.

Dear Dr. Enade Istyastono,

Invitation as an Invited Speaker at International Conference on Computation of Science and Technology, 3rd to 4th November 2016 in Langkawi, Malaysia

On behalf of the ICCST and CADD 2016 committee, we would like to invite you as an Invited speaker in International Conference on Computation of Science and Technology to be held in Langkawi from 3rd to 4th November 2016.

2. The event is aimed to provide the insight into successful applications of computational methods in Science, Technology and Engineering. We are sure this can also be a platform for computational scientists to share their current progress and foster collaboration in the field.

3. It is our great honor if you would accept the invitation. We will be pleased to cover the registration fees, meals and the accommodation during the event.

4. We await your positive response and look forward to seeing you in Langkawi, Malaysia.

Yours sincerely,

(**PROFESSOR DR HABIBAH A WAHAB)**
CHAIR
ICCST and CADD 2016 Committee

2nd Bandung International Conference on Medicinal Chemistry

ICMC2007 Secretariat
Jalan Ganesha 10 Bandung 40132, Indonesia
Phone: +62-22-2514421; Fax: +62-22-2504852
E-mail: bicmc2017@fa.itb.ac.id; http://www.icmc-itb.org/

Bandung, 14th June 2017

Our ref. no.: 153/I1.CO3.8.7/SP.79/2017

Dr. Enade Perdana Istyastono, Apt
Faculty of Pharmacy
Universitas Sanata Dharma
Sleman, Yogyakarta

Dear Dr. Enade,

Herein, we would like to inform you that **The 2nd Bandung International Conference on Medicinal Chemistry (ICMC)** 2017 will be held in Bandung on October 5-6, 2017. In this conference we will discuss medicinal chemistry strategies and successes together with emerging technologies in discovering leads, and will draw on expertise from an impressive line-up of globally renowned scientists from academia and industries.

On behalf of the Scientific and Organizing Committee, we are pleased to extend an invitation to you to be our ***Invited Speaker***.

To facilitate your visit to Bandung, as our invited speaker, it will be delighted to provide you transportation, accommodation, meal and city tour/social event during you are attending the conference.

We sincerely hope that you will kindly accept our invitation and grace the occasion with your presence. Your participation in this event is an honour and will encourage us as well as young scientist.

We are looking forward to meet you in Bandung, Indonesia.

Sincerely yours,

Assoc. Prof. Rahmana E. Kartasasmita
Chair
Scientific and Organizing Committee

www.aimms.vu.nl/en/people/i/istyastono.aspx

Apps | InstallationUbuntu - | Python Extension Pac | Import to Mendeley | Useful Shortcut Keys | Master Journal List - | UBVU Off-Campus Ac | 0 Messages | Other bookmarks

Amsterdam Institute for Molecules, Medicines and Systems

Home | Sitemap | Contact | People search

Corporate VU site

Text size Search

About AIMMS | Research | Education | People | News & Events | Miscellaneous

Home > People > I > Istyastono

A
B
C
D
E
F
G
H
I
J
K
L
M

Dr. E.P. Istyastono

Telephone:	+31 20 59 87600
Room nr:	m-352
E-mail:	e.p.istyastono@vu.nl
Unit:	faculteit der exacte wetenschappen (farmacochemie)
Position:	Assistant professor

Quick links:

- Research programmes
- Research groups

© Copyright VU University Amsterdam

Dr. Chris de Graaf
Assistant Professor Division Medicinal Chemistry
Department of Chemistry and Pharmaceutical Sciences, Faculty of Sciences
Amsterdam Institute for Molecules, Medicines and Systems (AIMMS)
De Boelelaan 1083, 1081 HV Amsterdam
Vrije Universiteit Amsterdam, The Netherlands
e-mail: c.de.graaf@vu.nl

To:
Dr. Enade P. Istyastono
Faculty of Pharmacy, Sanata Dharma University, Campus 3
Paingan, Maguwohardjo, Depok, Sleman
Yogyakarta 55282
Indonesia

Subject: **Visit for collaborative workshop and e-science symposium**

Amsterdam, September 2nd 2016

Dear Dr. Istyastono,

Our joint research project on *Development of Structure-based Virtual Screening Protocols in Drug Discovery by Employing Protein-Ligand Interaction Fingerprints* has resulted in interesting progress. As discussed during our online telephone conference last week we have concluded that a face-to-face hands-on workshop will be the next step to efficiently further develop our research collaboration. Therefore, we invite you to come to our department at Vrije Universiteit Amsterdam from 10 to 21 October 2016 to participate in the collaborative workshop activities.

We furthermore encourage you to attend the "4th National eScience Symposium" (www.esciencecenter.nl/event/4th-national-escience-symposium) that will be held on 13 October 2016. We are actively participating to this symposium within the context of our 3D-e-Chem project supported by the Netherlands eScience Center (www.esciencecenter.nl/project/3d-e-chem), and the scientific topics that will be presented at the symposium will be highly relevant for our joint research collaboration.

We sincerely hope that you will be able to visit us 10 to 21 October, and wish you success with your research and career.

Yours sincerely,

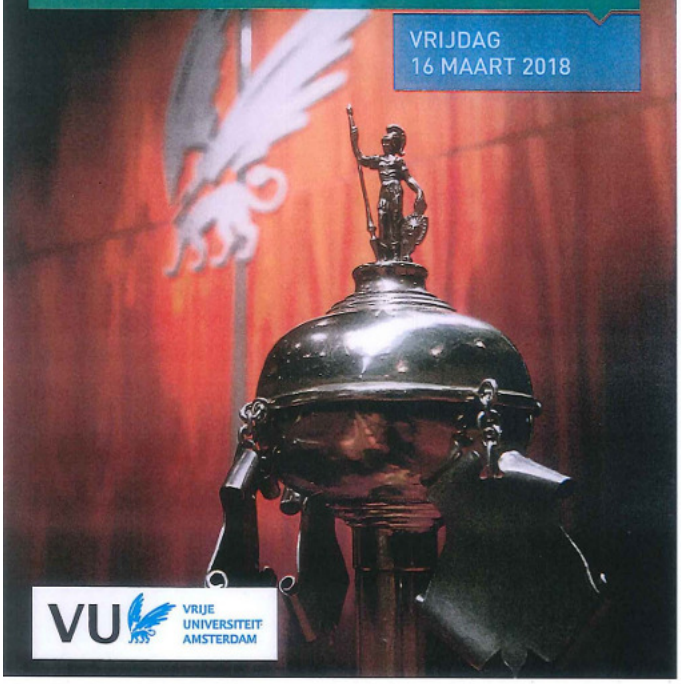
Dr. Chris de Graaf
Assist. Prof. Computational Medicinal Chemistry, Principal Investigator NLeSC 3D-e-Chem project

UITNODIGING INAUGURELE REDE

dr. J.E. van Muijlwijk-Koezen

ONDERZOEK & ONDERWIJS: VAN 0|2 NAAR O_2

VRIJDAG
16 MAART 2018



VU VRIJE UNIVERSITEIT AMSTERDAM

De rector magnificus van de Vrije Universiteit en de decaan van de Faculteit der Bètawetenschappen nodigen u van harte uit tot het bijwonen van de openbare zitting van het College van Decanen, waarin mevrouw

dr. J.E. van Muijlwijk-Koezen

benoemd tot hoogleraar Innovations in Human Health and Life Sciences in the domain of Chemistry and Pharmaceutical sciences (CPS), haar ambt hoopt te aanvaarden met het uitspreken van de rede

ONDERZOEK & ONDERWIJS: VAN 0|2 NAAR O_2

Deze zitting is bepaald op

vrijdag 16 maart 2018
om 15.45 uur precies, in de aula van de universiteit,
De Boelelaan 1105.

Na afloop receptie.

Amsterdam, januari 2018

prof.dr. V. Subramaniam
rector magnificus

prof.dr. A.Th. Schreiber
decaan

Hoogleraren worden uitgenodigd deel uit te maken van het cortège. Zij dienen daartoe uiterlijk 15 minuten voor aanvang van de bijeenkomst aanwezig te zijn in de Forumzaal (ruimte 2D-02). Het wordt op prijs gesteld dat de hoogleraren de toga van hun universiteit dragen.

Openbare parkeerruimte rondom de Vrije Universiteit (1081 HV) is aanwezig. De parkeerduur is beperkt tot maximaal 3 uur (behalve in parkeergarages). De VU is uitstekend te bereiken met het openbaar vervoer: trams 5, 16, 24 en 51. Vanaf Station Amsterdam Zuid is het tien minuten lopen naar de VU.

WWW.VU.NL > OVER DE VU > CONTACT/ROUTEBESCHRIJVING

Gmail

Enade Istyastono <enade.istyastono@gmail.com>

Visit the NL 2018 (16-30 March 2018)

Enade Istyastono <enade.istyastono@gmail.com> Mon, Feb 19, 2018 at 2:40 PM
To: Jacqueline van Muijlwijk-Koezen <j.e.koezen@vu.nl>, "I.J.P. de Esch" <i.de.esch@vu.nl>, "Leurs, R." <r.leurs@vu.nl>, Rob Leurs <leurs@mac.com>

Dear Rob, Iwan and Jacqueline,

I've booked the flight to the NL. It is scheduled to arrive there on 16 March 2018 in the morning and leave the NL to go back to Jogja at Good Friday on 30 March 2018. There are at least 5-8 week days to arrange meetings at the VU. Moreover, since I could reach the VU on 16 March 2018 I hope I can attend Jacqueline's inaugural lecture in the afternoon.

Looking forward to seeing you again.

Best regards,
Enade