

## Skrining Senyawa *Combretum indicum* sebagai Inhibitor Caspase 3 secara *In Silico*

Screening of *Combretum indicum* Compounds as Caspase 3 Inhibitors *In Silico*

Samsul Hadi<sup>(a)\*</sup>, Salma<sup>(a)</sup>, Amalia Khairunnisa<sup>(a)</sup>, Suci Kamelia<sup>(a)</sup>

<sup>(a)</sup>Program Studi Farmasi, FMIPA, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin, Kalimantan Selatan, Indonesia

Article info:

Received Date : 23/07/2022

Revised Date : 23/07/2022

Accepted Date : 10/08/2022

Keywords:

*Combretum indicum*

Osteoarthritis

Caspase

PLANTS software

Corresponding Authors:

Program Studi Farmasi, FMIPA, Universitas  
Lambung Mangkurat, Banjarmasin.

Kalimantan Selatan, Indonesia.

Email: [samsul.hadi@ulm.ac.id](mailto:samsul.hadi@ulm.ac.id)

**Abstrak:**

Osteoarthritis (OA) ialah gangguan sendi degeneratif yang ditandai dengan erosi *cartilage* artikular. Salah satu protein yang mempunyai peran besar dalam penyakit ini adalah caspase sub type 3. Skrining senyawa melati belanda Inhibitor Caspase 3 menjadi tujuan dalam penelitian. Metode dari penelitian ini menggunakan senyawa yang terkandung dalam *Combretum indicum*. Data ini kemudian dilakukan *docking* menggunakan software PLANTS. Hasil dari penelitian ini adalah skor (nilai) *docking* dari masing-masing senyawa yaitu Isatin Sulfonamide -90,8975; Casuariin -92,4942; asquisqualic acid -90,8911; 1-desgalloyleugeniin -100,988; arachidonic acid -63,4613; Punicalin -88,2142; linoleic acid -97,4111; gallic acid -59,1281; Rutin -95,3717; ellagic acid -63,6793; methyl ursolate -77,5611; flavogallonic acid -80,8221; Quisqualic acid -63,1281; brevifolin carboxylic acid -71,5203; Trigonelline -59,8987; Quercetin -74,4091; quinoline-4-carbonitrile -61,5971;  $\beta$ -sitosterol -87,3881; Pedunculagin -86,843; Lupeol -76,4221; Punicalagin -82,1754; linalool -67,8673; Eugeniin -100,7541. Oleh karena itu senyawa yang berpotensi sebagai inhibitor caspase 3 dengan skor *docking*  $\geq$  dari *ligan reference* adalah Rutin, linoleic acid, asquisqualic acid, Eugeniin, Casuariin, 1-desgalloyleugeniin.

**Abstract**

Osteoarthritis (OA) is a degenerative joint disorder characterized by erosion of the articular cartilage. One of the proteins that have a major role in this disease is caspase sub type 3. The screening of melati belanda compounds Caspase 3 inhibitors is the goal in this research. The method of this research used compounds contained in *Combretum indicum*. This data is then docked using PLANTS software. The results of this research were the *docking* scores (value) of each compound. namely Isatin Sulfonamide -90.8975; Casuariin -92.4942; asquisqualic acid -90.8911; 1-desgalloyleugeniin -100.988; arachidonic acid -63.4613; Punicalin -88.2142; linoleic acid -97.4111; gallic acid -59.1281; Rutin -95.3717; ellagic acid -63.6793; methyl ursolate -77.5611; flavogallonic acid -80.8221; Quisqualic acid -63.1281; brevifolin carboxylic acid -71.5203; Trigonelline -59.8987; Quercetin -74.4091; quinoline-4-carbonitrile -61.5971;  $\beta$ -sitosterol -87.3881; Pedunculagin -86.843; Lupeol -76.4221; Punicalagin -82.1754; linalool -67.8673; Eugeniin -100.7541. Therefore, compounds that have potential as caspase 3 inhibitors with a *docking* score  $\geq$  from the reference ligand are Rutin, linoleic acid, asquisqualic acid, Eugeniin, Casuariin, 1-desgalloyleugeniin.

## PENDAHULUAN

Osteoarthritis ialah gangguan sendi degeneratif yang ditandai dengan erosi *cartilage* artikular dan merupakan kandidat potensial untuk agen terapeutik anti-apoptosis. Kondrosit adalah satu-satunya jenis sel yang ditemukan di tulang rawan dan khusus untuk jaringan ini. Peningkatan tingkat apoptosis telah dilaporkan pada kondrosit superfisial, zona tengah, dan hipertrofik pada kartilago *Osteoarthritis* (OA) (Wang *et al.*, 2000). Selain itu, kondrosit yang berdekatan dengan lesi OA mengekspresikan kadar bcl-2 yang tinggi, sebuah gen yang terlibat dalam penghambatan apoptosis. Degradasi tulang rawan seperti halnya hasil dari pembelahan protein matriks oleh enzim proteolitik yang berasal dari kondrosit dan/atau sinoviosit. Saat OA berlanjut, jaringan kolagen fibrilar terdegradasi dan kematian sel kondrosit meningkat (Hatori *et al.*, 1995).

Penelitian model transgenik, apoptosis disregulasi telah diamati pada kondrosit yang terkait dengan kelainan struktural dan perkembangan utama, sehingga menunjukkan peran penting untuk regulasi proses ini di tulang rawan artikular. Peningkatan jumlah kondrosit apoptosis juga telah diamati pada model hewan dengan OA yang diinduksi pembedahan. Oleh karena itu, bukti yang menunjukkan peran apoptosis pada kondrosit dari tulang rawan normal sangat luas dan meyakinkan (Karaplis dan Vautour, 1997)

Inhibitor caspase 3 memblokir apoptosis dalam model osteoarthritis *in vitro* menunjukkan untuk pertama kalinya bahwa aktivitas caspase 3 sangat penting dalam apoptosis kondrosit dan bahwa inhibitor ini pada akhirnya dapat mengarah pada strategi terapi baru. Selain itu, senyawa inhibitor tersebut menghambat apoptosis pada neutrofil sumsum tulang *tikus*. Strategi baru ini merupakan pendekatan untuk pengobatan penyakit yang ditandai dengan apoptosis berlebihan, seperti OA (Yedjou *et al.*, 2010).

Mutan caspase-null telah digunakan untuk menunjukkan pentingnya anggota keluarga individu dalam perkembangan embrio murine, dan sel-sel yang berasal dari tikus yang kekurangan caspase ini telah memungkinkan asosiasi caspase individu dengan perubahan morfologi spesifik yang terjadi selama apoptosis (Hakem *et al.*, 1998). Penelitian ini mengenai keterlibatan caspase dalam apoptosis secara *in vitro* dengan mengukur aktivitas enzim dan mengevaluasi efek inhibitor dalam sel yang diinduksi oleh senyawa. Studi berbasis sel telah dilakukan menggunakan inhibitor peptida dengan permeabilitas sel terbatas, inhibitor peptida ireversibel, dan inhibitor peptida prodrug (Garcia-Calvo *et al.*, 1998).

Kemajuan signifikan mengenai mekanisme molekuler apoptosis telah dicapai dalam beberapa tahun terakhir, dan peran caspases sebagai komponen integral dari proses transduksi sinyal

telah dipelajari secara intensif (Mesner, Budihardjo, dan Kaufmann, 1997). Sebelas caspase manusia telah diidentifikasi. Salah satu caspase yang berperan penting adalah caspase 3.

Caspase 3 telah ditemukan diaktifkan di hampir setiap model apoptosis. Itu termasuk dalam subfamili caspases efektor yang juga mencakup caspase 6 dan 7. Caspases ini diaktifkan di bagian hilir caspases inisiator yaitu caspase 8 dan 10. Substrat alami caspase 3 mencakup banyak protein yang terlibat dalam pemeliharaan dan/atau perbaikan sel (Nicholson dan Thornberry, 1997). Misalnya, fragmentasi oligonukleosom (DNA *laddering*) adalah ciri khas dari apoptosis dan dimediasi oleh *caspase-activated deoxyribonuclease* (CAD), satu yang aktivasinya dipengaruhi oleh pembelahan *caspase 3-mediated* dari CAD. Ketersediaan inhibitor selektif caspase 3 akan memungkinkan evaluasi potensi penghambatan apoptosis pada tingkat efektor caspase (Enari *et al.*, 1998). Salah satu tanaman yang kandungan senyawanya yang berpotensi sebagai inhibitor caspase 3 berdasarkan pola kemiripan struktur database yang dimiliki oleh *PASSonline* adalah *Combretum indicum* (melati belanda). Berdasarkan penelitian pendahuluan (kemiripan struktur) senyawa yang terkandung dalam melati belanda memiliki Pa (*Probability active*) yang lebih tinggi dari Pi (*Probability inactive*) nilainya adalah 0.111 - 0.175. Senyawa melati belanda berpotensi dilakukan penelitian lebih lanjut baik secara *in silico* atau *in vitro*. Dalam hal ini peneliti melakukan penelitian *in silico* dengan metode *docking* menggunakan PLANTS.

## METODE PENELITIAN

### Bahan dan Alat

Bahan untuk penelitian berupa 22 *ligan* kandungan kimia yang terdapat dalam *Combretum indicum* PDBID dengan kode 1gfw. Peralatan ada dua yaitu perangkat keras yaitu laptop ACER es1-431-p9p3 dan perangkat lunak yang dipergunakan adalah PLANT®, ChemAxon®, Discovery studio®, Yasara®.

### Cara Kerja

Penelitian dimulai dengan dengan validasi *ligan native* yang terikat dengan caspase3. Setelah mendapatkan nilai RMSD di bawah 3 Å, maka koordinat itu dipergunakan untuk *docking* senyawa yang terdapat pada melati belanda. Senyawa-senyawa yang terdapat pada melati belanda dibangun strukturnya dan dibuat konformasinya menggunakan chemaxon. Tahap selanjutnya adalah preparasi protein menggunakan *software* yasara® dengan cara menghilangkan molekul air dan ligan yang tidak berhubungan dengan proses *docking*. Tahap kedua *docking* menggunakan PLANTS, dan untuk melihat jenis interaksi antara ligan dengan protein menggunakan *discovery studio*.

## Analisis Data

Semakin negatif nilai skor *docking* maka interaksi semakin bagus dan mudah terjadi reaksi, di samping itu juga melihat skor *docking* yang lebih kecil atau sama dengan dari skor *docking ligand native*.

$$E_{\text{plantscore}} = f_{\text{PLP}} + f_{\text{clash}} + C_{\text{site}} - 20$$

$F_{\text{PLP}}$  merupakan potensi linier interaksi protein dan ligan. Potensi linier dari metode PLANTS melihat jenis interaksi (*repulsive*, ikatan hydrogen, *buried*, non polar dan logam). Potensial torsional dan benturan ligan,  $f_{\text{tors}}$  dan  $f_{\text{clash}}$  mempertimbangkan benturan kontribusi torsional dan ligan internal serta obligasi fleksibel dalam ligan.  $C_{\text{site}}$  merupakan hukum yang dinilai jika konformasi ligan berada di luar lingkup ruang pencarian.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

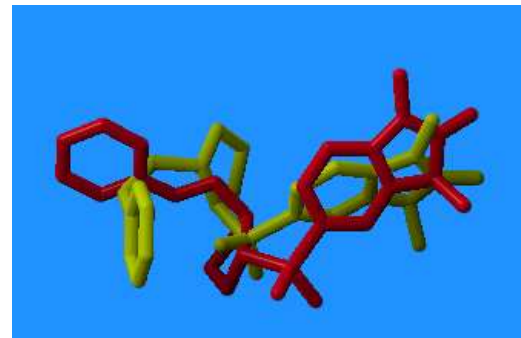
Caspase 3 merupakan protein penting yang berperan dalam apoptosis. sehingga inhibitor apoptosis ini berguna untuk Osteoarthritis atau kondisi penyakit yang disebabkan oleh apoptosis yang berlebih. Penelitian ini telah dimulai dengan uji pendahuluan menggunakan *PASSonline* yang berguna untuk memprediksi aktivitas kandungan kimia yang terkandung dalam melati belanda yang berpotensi sebagai inhibitor caspase.

Penelitian *docking* ini menggunakan PLANT dimulai dengan validasi metode yaitu dengan melakukan *redocking* terhadap ligan native. Hasil yang diperoleh adalah 2,865 Å, sehingga koordinat X:37.6468; Y:33.5653; Z:27.9733 dengan radius 11.6033 memenuhi syarat validitas karena nilainya  $\leq 3$  Å (Jain dan Nicholls, 2008) terlihat pada gambar 1. Nilai RMSD yang mendekati 3 ini melibatkan ikatan kovalen pada ligan *native*, sehingga PLANT sulit melakukan *docking* kovalen. Dengan demikian metode ini dapat digunakan untuk I senyawa dari melati belanda.

Pada penelitian ini dihasilkan skor *docking*. Nilai skor *docking* yang  $\geq$  dari ligan *reference* adalah asquissqualic acid (-90.8911), linoleic acid (-97.4111), Rutin (-95.3717), Eugeniiin (-100.7541), Casuariin (-92.4942), 1-desgalloyleugeniin (-100.988). Oleh karena itu keenam ligan ini menjadi hal yang menarik untuk penelitian lebih lanjut karena memiliki kestabilan yang menyerupai *ligand reference*.

Asquissqualic acid memiliki persamaan residu yang terikat dengan *ligand reference* yaitu ARG207, CYS163, HIS121. Ikatan elektrostatik terjadi antara ligan uji dengan residu ARG64 (3,843 Å), ARG207 (3,118 Å). Ikatan hidrogen terjadi antara ligan uji dengan residu ARG64 (2,797 Å), ARG207 (2,907 Å), ARG64 (2,880 Å).

HIS121 (3,068), SER205 (2,805 Å). Ikatan Pi-Sulfur terjadi dengan CYS163 (5,495 Å).



**Gambar 1.** Visualisasi *ligand reference* dengan *ligand docking*

Ligan Merah *reference* dan kuning adalah ligan *redocking*

*Linoleic acid* memiliki persamaan ARG207, PHE256, CYS163, TYR204, TRP206. Jembatan garam terjadi dengan residu ARG64 (2,732 Å), ARG207 (2,524 Å). Ikatan hidrogen terjadi antara ARG64 (2,934 Å), GLN161 (2,739 Å), ARG207 (3,690 Å). Ikatan hidrofob terjadi antara CYS163 (4,639), TRY204 (4,176 Å), TRP206 (4,048 Å), PHE256 (4,325Å). Rutin memiliki persamaan TYR204, ARG207, PHE256, ASN208, TRP206.

Ikatan hidrogen terjadi dengan residu THR62 (3,072 Å), SER65 (2,299 Å), ARG207 (2,936 Å), ASN208 (3,173 Å), SER209 (3,014 Å), SER251 (2,996 Å). Ikatan hidrofob terjadi dengan residu TRP206 (4,885 Å), TYR204 (5,475 Å) dan PHE256 (4,518 Å). Eugeniiin memiliki persamaan residu dengan HIS 121, CYS163, TYR204, ARG207, TRP206, PHE256. Ikatan elektrostatik terjadi antara TRP206 (4,235 Å) dan PHE256 (4,926 Å). Ikatan hidrogen terjadi dengan residu THR62, HIS121 (2,964 Å), CYS163 (2,574 Å), TYR204 (3,059 Å), ARG207 (2,723 Å), ASN208 (3,153 Å), SER209 (2,780 Å), SER251 (3,101 Å).

Casuariin, persamaan residu yang berinteraksi adalah ARG207 dan TYR204. Ikatan yang terjadi adalah elektrostatik dengan residu ARG207 (4,836 Å). Ikatan hidrogen terjadi dengan residu PHE250 (3,149 Å), PHE252 (2,938 Å), THR62 (3,017Å), TYR204 (3,315 Å), SER251 (3,752 Å), ASN208 (2,900 Å), SER209 (2,93 Å). 1-desgalloyleugeniin persamaan residu yang berinteraksi adalah ARG207 dan TRP 206. Ikatan elektrostatik terjadi dengan residu ARG 207 (4,152 Å). Ikatan hidrofob terjadi dengan TRP 206 (5,446 Å). Ikatan hidrogen terjadi dengan SER209 (2,468 Å), SER63 (2,63 Å), ASN208 (2,665 Å), SER65 (2,646 Å), PHE250 (2,743 Å), THR62 (3,645 Å), SER249 (3,636 Å), TRP206 (2,634 Å).

**Tabel 1.** Hasil *Docking*

Nama Ligan	Skor <i>Docking</i>	Nama Ligan	Skor <i>Docking</i>
<i>Ligand reference</i> (Isatin Sulfonamide)	-90.8975	Casuariin	-92.4942
asquisqualic acid	-90.8911	1-desgalloyleugeniin	-100.988
arachidonic acid	-63.4613	Punicalin	-88.2142
linoleic acid	-97.4111	gallic acid	-59.1281
Rutin	-95.3717	ellagic acid	-63.6793
methyl ursolate	-77.5611	flavogallonic acid	-80.8221
Quisqualic acid	-63.1281	brevifolin carboxylic acid	-71.5203
Trigonelline	-59.8987	Quercetin	-74.4091
quinoline-4-carbonitrile	-61.5971	β-sitosterol	-87.3881
Pedunculagin	-86.843	Lupeol	-76.4221
Punicalagin	-82.1754	linalool	-67.8673
Eugeniin	-100.7541		

**Tabel 2.** Residu yang terlibat dalam interaksi, peneliti menampilkan semua interaksi yang terlibat dalam interaksi ligan dan protein.

Reference	asquisqualic acid	arachidonic acid	linoleic acid	rutin	methyl ursolate	Quisqualic acid
GLY122	-	-	-	-	-	-
CYS163	+	+	+	-	+	+
ARG207	+	+	+	+	+	+
HIS121	+	-	-	-	-	+
PHE256	-	+	+	+	+	-
TYR204	-	+	+	+	+	-
TRP206	-	+	+	+	+	-
-	SER205	-	-	-	-	-
-	ARG64	+	+	-	-	+
-	-	GLN161	-	-	-	-
-	-	ALA162	-	-	-	-
-	-	-	GLN161	-	-	+
-	-	-	-	ASN208	-	-
-	-	-	-	SER209	-	-
-	-	-	-	SER251	-	-
-	-	-	-	THR62	-	-
-	-	-	-	SER65	-	-
-	-	-	-	-	SER205	-
-	-	-	-	-	ASP253	-
-	-	-	-	-	PHE252	-
-	-	-	-	-	-	ALA162
-	-	-	-	-	-	SER120
Reference	Trigonelline	quinoline-4-carbonitrile	pedunculagin	punicalagin	Eugeniin	casuariin
GLY122	-	-	-	-	-	-
CYS163	+	-	-	+	+	-
ARG207	+	+	+	+	+	+
HIS121	-	-	-	-	+	-
PHE256	+	-	+	+	+	-
TYR204	+	+	+	-	+	+
TRP206	+	-	-	-	+	-
-	-	-	ASN208	-	+	+
-	-	-	SER209	-	+	+

**Tabel 2.** Residu yang terlibat dalam interaksi, peneliti menampilkan semua interaksi yang terlibat dalam interaksi ligan dan protein (lanjutan)

Reference	Trigonelline	quinoline-4-carbonitrile	pedunculagin	punicalagin	Eugeniin	casuariin
-	-	-	SER65	-	-	-
-	-	-	MET61	+	-	+
-	-	-	-	ARG64	-	-
-	-	-	-	SER209	-	-
-	-	-	-	GLN161	-	-
-	-	-	-	-	SER251	+
-	-	-	-	-	-	PHE250
-	-	-	-	-	-	PHE252

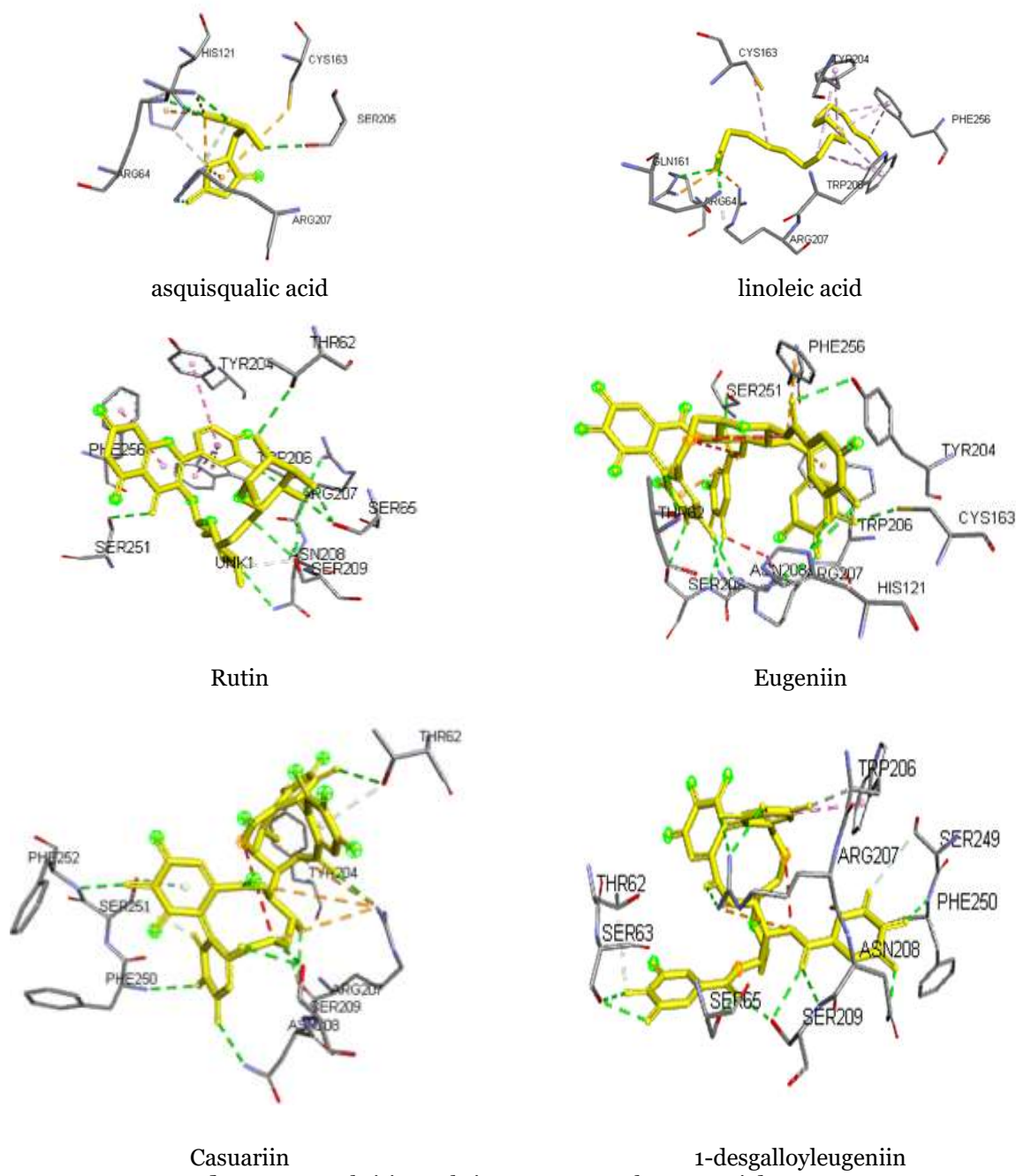
Reference	1-desgalloyleugeniin	punicalin	gallic acid	ellagic acid	flavogallonic acid	brevifolin carboxylic acid
GLY122	-	-	+	-	-	-
CYS163	-	+	+	-	-	-
ARG207	+	+	-	-	+	+
HIS121	-	+	+	-	-	-
PHE256	-	+	-	+	+	-
TYR204	-	+	+	+	-	-
TRP206	+	-	-	-	+	+
-	SER249	-	-	-	-	-
-	SER63	-	-	-	-	-
-	SER65	-	-	-	-	-
-	SER209	-	-	-	+	+
-	THR62	-	-	-	-	-
-	PHE250	-	-	-	-	-
-	ASN208	+	-	-	+	-
-	-	SER251	-	+	-	-
-	-	PHE250	-	-	-	-

Reference	quercetin	$\beta$ -sitosterol	Lupeol	linalool
GLY122	-	-	-	-
CYS163	-	+	-	-
ARG207	+	+	-	+
HIS121	-	-	-	-
PHE256	+	+	+	+
TYR204	-	-	+	+
TRP206	+	+	+	+
-	SER251	-	-	-
-	-	SER205	+	+
-	-	PHE252	-	-

Residu asam amino yang berperan dalam interaksi ini adalah daerah katalitik yaitu residu HIS 121 and CYS163, karena dua residu berperan dalam terjadinya reaksi (Lee *et al.*, 2000). Interaksi ini terjadi antara protein dengan senyawa asquissqualic acid, Quisqualic acid, Trigonelline, punicalagin, Eugeniin, punicalin, gallic acid,  $\beta$ -sitosterol, sedangkan daerah *binding site* adalah TYR204-PHE256-TRP206 (Lee *et al.*, 2000). Hal ini terjadi antara residu dengan ligan arachidonic acid, linoleic acid, Rutin, methyl ursolate, Trigonelline, pedunculagin, punicalagin, Eugeniin, Casuariin, 1-desgalloyleugeniin, puni-

calin, gallic acid, ellagic acid, flavogallonic acid, brevifolin carboxylic acid, quercetin,  $\beta$ -sitosterol, Lupeol, linalool. Pengembangan obat inhibitor caspase 3 dipergunakan untuk gangguan Parkinson dengan kode obat Z-VAD-FMK, Alzheimer's kode obat Q-VD-OPH, *Amyotrophic lateral sclerosis* (ALS) kode Z-VAD-FMK, *Huntington's disease* (HD) kode M826, *Ischemic stroke* Ac-DMQD-CHO, *Spinal cord injury* Q-VD-OPH (Lee *et al.*, 2018). Mengenai mekanisme kerja dari inhibitor caspase 3 (Z-DEVD-Fmk) terlihat seperti di gambar 3.



**Gambar 2.** Interaksi-interaksi senyawa yang berpotensi dengan caspase 3

*Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand* (TRAIL) melakukan *rebound* efek *multi drug resintace* (MDR) dengan menginduksi apoptosis pada sel karsinoma lambung dengan peran *c-myc* dalam memodulasi reseptor kematian DR4 dan DR5, sehingga penggunaan inhibitor caspase -3 mampu menekan *c-myc* oleh siRNA dan mengurangi ekspresi DR4 dan DR5 yang akan berpengaruh terhadap caspase 3 (Kuhn *et al.*, 2008; Zhu *et al.*, 2015). *Knockdown* gen TNFRSF1B menghasilkan induksi program apoptosis yang bergantung pada caspase-8, caspase-2 dan P53 dalam sel endotel yang

melewati caspase-3. Keseimbangan antara TNFR yaitu TNFRSF1A memberi sinyal apoptosis melalui caspase-8, sedangkan TNFRSF1B memberi sinyal kelangsungan hidup melalui NF-KB hal ini terlihat pengaruhnya pada DNA *fragmentation factor* (DFFB) (Espín *et al.*, 2013). *Amyotrophic lateral sclerosis* (ALS) adalah penyakit neurodegeneratif yang ditandai dengan kematian neuron motorik, degenerasi akson, dan denervasi *neuromuscular junctions* (NMJ). Mekanismenya melalui peningkatan DR6 pada jalur pensinyalan caspase 3, sehingga salah satu mekanisme menghambat apoptosis adalah



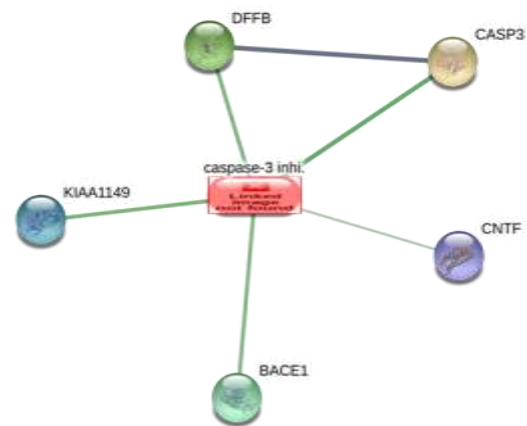
menge-block fungsi DR6 pada *ciliary neurotrophic factor* (CNTF) (Huang *et al.*, 2013). Ketika terjadi apoptosis maka protein Bcl-2 *downregulated* dan BAX *upregulated*, sehingga inhibitor caspase 3 berperan dalam augmentasi Bcl-2 dan meningkatkan protein BAD melalui beta-secretase 1 isoform E (KIAA1149) (Park *et al.*, 2014). Permasalahan apoptosis dapat mengakibatkan penyakit yang berhubungan dengan tulang seperti osteonekrosis. Strategi anti-apoptosis termasuk penghambatan protein caspase 3, poly [ADP-ribose] polymerase (PARP), dan Bcl-2 serta induksi jalur PKB/Akt dan keluarga protein inhibitor of apoptosis (IAP), melalui *beta-site APP-cleaving enzyme 1* (BACE1) pada tulang (Mollazadeh, Bazzaz dan Kerachian *et al.*, 2015).

## KESIMPULAN

Senyawa dari melati belanda yang berpotensi sebagai inhibitor caspase 3 adalah Rutin, linoleic acid, asquisqualic acid, Eugeniiin, Casuariin, 1-desgalloyleugeniiin.

## DAFTAR PUSTAKA

- Enari, M., Sakahira, H., Yokoyama, H., Okawa, K., Iwamatsu, A., dan Nagata, S., 1998, A caspase-activated DNase that degrades DNA during apoptosis, and its inhibitor ICAD, *Nature*, 391(6662), 43–50, <https://doi.org/10.1038/34112>.
- Espín, R., Roca, F.J., Candel, S., Sepulcre, M.P., González-Rosa, J.M., Alcaraz-Pérez, F., Meseguer, J., Cayuela, M.L., Mercader, N., dan Mulero, V., 2013, TNF receptors regulate vascular homeostasis in zebrafish through a caspase-8, caspase-2 and P53 apoptotic program that bypasses caspase-3, *Disease Models and Mechanisms*, 6(2): 383–396, <https://doi.org/10.1242/dmm.010249>.
- Garcia-Calvo, M., Peterson, E.P., Leiting, B., Ruel, R., Nicholson, D.W., dan Thornberry, N.A., 1998, Inhibition of human caspases by peptide-based and macromolecular inhibitors, *The Journal of Biological Chemistry*, 273(49): 32608–32613, <https://doi.org/10.1074/jbc.273.49.32608>.
- Hakem, R., Hakem, A., Duncan, G.S., Henderson, J.T., Woo, M., Soengas, M.S., Elia, A., de la Pompa, J.L., Kagi, D., Khoo, W., Potter, J., Yoshida, R., Kaufman, S.A., Lowe, S.W., Penninger, J.M., dan Mak, T.W., 1998, Differential requirement for caspase 9 in apoptotic pathways in vivo, *Cell*, 94(3), 339–352, [https://doi.org/10.1016/S00928674\(00\)81477-4](https://doi.org/10.1016/S00928674(00)81477-4).
- Hatori, M., Klatte, K.J., Teixeira, C.C., dan Shapiro, I.M., 1995, End labeling studies of fragmented DNA in the avian growth plate: evidence of apoptosis in terminally differentiated chondrocytes, *Journal of Bone and Mineral Research: The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 10(12): 1960–1968, <https://doi.org/10.1002/jbmr.5650101216>.
- Huang, G., Lee, X., Bian, Y., Shao, Z., Sheng, G., Pepinsky, R.B., dan Mi, S., 2013, Death receptor 6 (DR6) antagonist antibody is neuroprotective in the mouse SOD1G93A model of



**Gambar 3.** Mekanisme senyawa inhibitor caspase 3 dengan STITCH (Kuhn *et al.*, 2008)

## UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada Universitas Lambung Mangkurat melalui PDWM 2022.

amyotrophic lateral sclerosis, *Cell Death dan Disease*, 4(10):e841, <https://doi.org/10.1038/cddis.2013.378>.

Jain, A.N. dan Nicholls, A., 2008, Recommendations for evaluation of computational methods, *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 22(3–4): 133–139, <https://doi.org/10.1007/s10822-008-9196-5>.

Karaplis, A.C. dan Vautour, L., 1997, Parathyroid hormone-related peptide and the parathyroid hormone/parathyroid hormone-related peptide receptor in skeletal development, *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, 6(4): 308–313, <https://doi.org/10.1097/00041552-199707000-00002>.

Kuhn, M., von Mering, C., Campillos, M., Jensen, L.J., dan Bork, P., 2008, STITCH: interaction networks of chemicals and proteins, *Nucleic Acids Research*, 36(Database issue): D684–D688, <https://doi.org/10.1093/nar/gkm795>.

Lee, D., Long, S.A., Adams, J.L., Chan, G., Vaidya, K.S., Francis, T.A., Kikly, K., Winkler, J.D., Sung, C.M., Debouck, C., Richardson, S., Levy, M.A., DeWolf, W.E.J., Keller, P.M., Tomaszek, T., Head, M.S., Ryan, M.D., Haltiwanger, R.C., Liang, P.H., Nuttall, M.E., 2000, Potent and selective nonpeptide inhibitors of caspases 3 and 7 inhibit apoptosis and maintain cell functionality, *The Journal of Biological Chemistry*, 275(21): 16007–16014, <https://doi.org/10.1074/jbc.275.21.16007>.

Lee, H., Shin, E.A., Lee, J.H., Ahn, D., Kim, C.G., Kim, J.-H., dan Kim, S.-H., 2018, Caspase inhibitors: a review of recently patented compounds (2013–2015), *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 28(1): 47–59, <https://doi.org/10.1080/13543776.2017.1378426>.

Mesner, P.W.J., Budihardjo, I.I., dan Kaufmann, S.H., 1997, Chemotherapy-induced apoptosis, *Advances in Pharmacology (San Diego, California)*, 41: 461–499, <https://doi.org/10.1016/>

s1054-3589(08)61069-8.

Mollazadeh, S., Bazzaz, B.S.F., dan Kerachian, M.A., 2015, Role of apoptosis in pathogenesis and treatment of bone-related diseases, *Journal of Orthopaedic Surgery and Research*, 10: 15, <https://doi.org/10.1186/s13018-015-0152-5>.

Nicholson, D.W. dan Thornberry, N.A., 1997, Caspases: killer proteases, *Trends in Biochemical Sciences*, 22(8): 299–306, [https://doi.org/10.1016/s0968-0004\(97\)01085-2](https://doi.org/10.1016/s0968-0004(97)01085-2).

Park, C., Lee, W.S., Go, S.-I., Nagappan, A., Han, M.H., Hong, S.H., Kim, G.S., Kim, G.Y., Kwon, T.K., Ryu, C.H., Shin, S.C., dan Choi, Y.H., 2014, Morin, a flavonoid from moraceae, induces apoptosis by induction of BAD protein in human leukemic cells, *International Journal of Molecular Sciences*, 16(1):645–659, <https://doi.org/10.3390/ijms16010645>.

Wang, F.-L., Connor, J.R., Dodds, R.A., James, I.E., Kumar, S.,

Zou, C., Lark, M.W., Gowen, M., dan Nuttall, M.E., 2000, Differential expression of Egr-1 in osteoarthritic compared to normal adult human articular cartilage, *Osteoarthritis and Cartilage*, 8(3): 161–169, <https://doi.org/https://doi.org/10.1053/joca.1999.0295>.

Yedjou, C.G., Milner, J.N., Howard, C.B., dan Tchounwou, P.B., 2010, Basic apoptotic mechanisms of lead toxicity in human leukemia (HL-60) cells, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 7(5): 2008–2017, <https://doi.org/10.3390/ijerph7052008>.

Zhu, X., Zhang, K., Wang, Q., Chen, S., Gou, Y., Cui, Y., dan Li, Q., 2015, Cisplatin-mediated c-myc overexpression and cytochrome c (cyt c) release result in the up-regulation of the death receptors DR4 and DR5 and the activation of caspase 3 and caspase 9, likely responsible for the TRAIL-sensitizing effect of cisplatin, *Medical Oncology (Northwood, London, England)*, 32(4):133, <https://doi.org/10.1007/s12032-015-0588-9>.