

Studi *In Silico* Perbandingan Aktivitas Antikanker Payudara dari Senyawa *Kuersetin* dengan Derivatisasi *Kuersetin* terhadap Protein HER-2

In Silico Study Comparison of Breast Anticancer Activity of Quercetin Compounds with Quercetin Derivatization of HER-2 Protein

Cindi Kartika, Ruswanto Ruswanto

Program Studi S1 Farmasi, STIKes Bakti Tunas Husada, Jl. Cilolohan 36, Tawang Tasikmalaya 46115 telp. (0265) 334740

*Corresponding author: Cindy.kartika0322@gmail.com

Received 7 Desember 2021

Accepted 15 Desember 2021

Available online 30 Desember 2021

Kata kunci:

Kanker
Payudara
HER-2
Derivatisasi
2',6-diisopropil
kuersetin;

ABSTRAK. HER-2 (*Human Epidermal growth factor Receptor-2*) berperan dalam proliferasi, migrasi, bertahan hidup dan pertumbuhan sel. Secara khusus 20-30 % ekspresi berlebih dari HER-2 dapat menyebabkan perkembangan sel kanker payudara. Senyawa 03Q (2 - {2-[4 - ({5 - chloro - 6 - [3 - (trifluoromethyl) phenoxy] pyridine - 3 -yl } amino) - 5H - pyrrolo [3,2 d] pyrimidin-5-yl] ethoxy } ethanol), sebagai *native ligand* yang berfungsi sebagai inhibitor HER-2 (Carpenter and Lo, 2013). Nantinya akan dilakukan docking pada quercetin dan dengan senyawa pembanding 2',6-diisopropyl quercetin yang di ujikan secara *in silico* dengan *molecular docking*. *Molecular docking* secara *in silico* dilakukan dengan beberapa tahapan seperti validasi metode, optimasi struktur senyawa *native ligand* ataupun pembanding nya secara 3D, dan *docking* tiap senyawa akan teroptimasi dengan protein HER-2 inhibitor yang mengacu pada parameter energi ikatan dimana semakin rendah nilai energi ikatan maka semakin kuat dan stabil ikatan yang terjadi antara senyawa *native ligand* ataupun senyawa pembanding dengan protein HER-2 inhibitor. Berdasarkan hasil docking diketahui bahwa 2'6-diisopropylquercetin memiliki nilai K_i sebesar 699.02 μ M. Hasil ini menunjukkan bahwa 2'6-diisopropylquercetin memiliki aktivitas penghambatan terhadap HER-2 meskipun efektivitas quercetin lima ratus kali lebih baik (14.78 μ M). Berdasarkan hasil studi ini diketahui bahwa 2'6-diisopropylquercetin mampu berikatan dengan reseptor HER-2 dengan stabil dan memiliki efek penghambatan pada reseptor tersebut walaupun ikatannya tidak sebaik quercetin.

Keywords:

Kanker
Payudara
HER-2
Derivatisasi
2',6-diisopropil
kuersetin

ABSTRACT. HER-2 (*Human Epidermal Growth factor receptor-2*) plays a role in proliferation, migration, survival and cell growth. Specifically, 20-30% overexpression of HER-2 can lead to the development of breast cancer cells. Compound 03Q (2 - {2-[4 - ({5 - chloro - 6 - [3 - (trifluoromethyl) phenoxy] pyridine - 3 -yl } amino) - 5H - pyrrolo [3,2 d] pyrimidine-5-yl] ethoxy } ethanol), as a native ligand that functions as an HER-2 inhibitor (Carpenter and Lo, 2013). Later, quercetin will be docked and the comparison compound 2',6-diisopropyl quercetin will be tested in silico with molecular docking. Molecular docking in silico is carried out in several stages such as method validation, optimization of the structure of the native ligand compound or its comparison in 3D, and the docking of each compound will be optimized with HER-2 inhibitor protein which refers to the binding energy parameter where the lower the bond energy value, the higher the bond energy. strong and stable bonds that occur between native ligand compounds or comparison compounds with HER-2 inhibitor proteins. Based on the docking results, it is known that 2'6-diisopropylquercetin has a K_i value of 699.02 M. These results indicate that 2'6-diisopropylquercetin has inhibitory activity against HER-2 although the effectiveness of quercetin is five hundred times better (14.78 M). Based on the results of this study, it is known that 2'6-diisopropylquercetin is able to bind to the HER-2 receptor stably and has an inhibitory effect on the receptor although its binding is not as good as that of quercetin.

PENDAHULUAN

Kanker payudara adalah tumor ganas yang dapat menyerang jaringan payudara yang terdiri dari kelenjar susu (kelenjar pembuat air susu), saluran kelenjar (saluran air susu), dan jaringan penunjang payudara. Kanker payudara menyebabkan sel dan jaringan payudara berubah bentuk menjadi abnormal dan bertambah banyak secara tidak terkendali. Pertumbuhan sel kanker yang tidak terkendali disebabkan kerusakan deoxyribose nucleic acid (DNA), sehingga menyebabkan mutasi gen vital yang mengontrol pembelahan sel (Paulsson, Sherertz and Park, 2018).

HER-2 (human epidermal growth factor receptor 2) berperan dalam proliferasi, migrasi, bertahan hidup dan pertumbuhan sel. Secara khusus 20-30 % ekspresi berlebih dari HER-2 dapat menyebabkan perkembangan sel kanker payudara. Ekspresi berlebih reseptor HER-2 akan mengaktivasi Bcl-2, Bcl-2 di dalam tubuh bersifat antiapoptosis sehingga akan mengalami proliferasi sel (Franklin *et al.*, 2004). Ekspresi berlebih dari HER-2 juga dapat menekan apoptosis melalui mekanisme yang dapat mengganggu kedua jalur apoptosis yaitu jalur intrinsik dan ekstrinsik. Pengobatan menggunakan antiestrogen tamoksifen merupakan terapi lini pertama untuk sebagian besar pasien dengan kanker payudara (Lykkesfeldt, Madsen and Briand, 1994). Namun dalam tiga dasawarsa terakhir, ribuan wanita yang mendapat pengobatan tamoksifen mengalami penurunan respon atau bahkan tidak memberikan respon terhadap pengobatan kemoterapi kanker payudara. Hal tersebut mungkin terjadi karena timbulnya resistensi. Sekitar 40% pasien akhirnya kambuh dan meninggal karena resistensi setelah terapi selama 7-10 bulan (Ring and Dowsett, 2004; Wind and Holen, 2011).

Diperlukan suatu pengembangan terapi terhadap kanker payudara yang memiliki target spesifik dan selektifitas yang tinggi terhadap terapi kanker payudara dengan eksplorasi potensi bahan alam berkhasiat. Kuersetin ialah suatu senyawa golongan flavonoid yang sangat banyak terdapat di alam. Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa senyawa kuersetin dapat menghalangi penyebaran berbagai jenis kanker seperti kanker paru-paru, prostat, hati, payudara, usus besar, dan leher rahim yang dapat beraksi sebagai antikanker pada regulasi siklus sel, yang berinteraksi dengan reseptor estrogen (ER) tipe II dengan menghambat enzim tirosin kinase (Wach, Pyrzyńska and Biesaga, 2007).

Menurut penelitian yang dilakukan (Seo *et al.*, 2016) kuersetin memiliki kemampuan untuk menghambat ekspresi berlebih reseptor HER-2. Dimana pada penelitian tersebut dilakukan uji *in vivo* yang menghasilkan nilai IC₅₀ sebesar 120 μ M. Pengujian terhadap potensi kuersetin sebagai agen antikanker payudara dapat dilakukan dengan mengetahui afinitas dan mekanisme molekuler dari kuersetin terhadap protein target HER-2 dengan menggunakan metode molecular docking secara *in silico* (pemodelan komputer). Teknik kimia komputasi ini dapat digunakan untuk mempercepat pemilihan senyawa yang akan diisolasi dan disintesis dengan mengidentifikasi dan optimasi senyawa penuntun dalam proses penemuan obat. Oleh karena itu, potensi kuersetin dalam menghambat ekspresi berlebih dari reseptor HER-2 dapat diketahui (M. B. O. Rastini, N. K. M. Giantari, K. D. Adnyani¹, 2019).

Dari hasil penelitian tersebut, diperoleh hasil bahwa senyawa kuersetin mampu berinteraksi dengan protein HER-2 dengan membentuk ikatan hidrogen pada asam amino MET801 yang mana ikatan hidrogen yang terbentuk tersebut sama dengan ikatan hidrogen yang terbentuk pada docking antara native ligand dengan protein HER-2. Hal ini menunjukkan sisi aktif tempat berikatan antara native ligand dan kuersetin pada protein HER-2 sudah sama sehingga akan menghasilkan afinitas yang sama pula dengan native ligandnya dalam menghambat protein

HER-2 (M. B. O. Rastini, N. K. M. Giantari, K. D. Adnyani¹, 2019). Sehingga, dalam penelitian ini, peneliti akan menguji dalam skrining pencegahan suatu penyakit kanker dengan adanya penghambatan dari protein HER-2 dengan senyawa pembanding yang peneliti akan uji dengan ligan ini (kuersetin) adalah senyawa derivatisasinya yaitu 2',6-diisopropil kuersetin.

METODE PENELITIAN

Alat : Peralatan yang digunakan yaitu berupa perangkat keras dan lunak komputer. Perangkat tersebut berupa Laptop dengan *processor* tipe AMD Ryzen 3 3200U with Radeon Vega Mobile Gfx 2,60 GHz, RAM 8 GB dengan sistem operasi windows 10 Ultimate 64-bit. Operating sistem dan perangkat lunak yang digunakan yaitu ChemDraw 2D, MarvinSketch, Molegro Molecul viewer, Autodock 4.2.6 dan Discovery studio.

Bahan : Senyawa yang digunakan yaitu kuersetin sebagai ligan , 2',6-diisopropil kuersetin sebagai senyawa pembanding dan reseptor yang digunakan yaitu HER-2 (Kode PDB : 3PP0).

Prosedur penelitian

A. Preparasi Reseptor

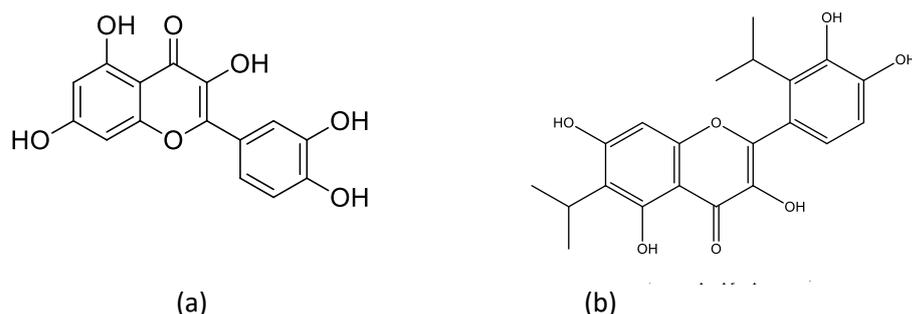
Ligand utama digunakan yaitu 2',6-diisopropil kuersetin dengan ligand pembanding (kontrol) yaitu kuersetin. Sedangkan reseptor yang digunakan yaitu HER-2 (PDB ID: 3PP0). Pengambilan data reseptor dilakukan dengan mengunjungi situs PDB (Protein Data Bank) (<https://www.rcsb.org/>) dan mengunduhnya dengan format pdb. Kemudian reseptor dioptimasi dengan dilakukan penghilangan molekul air dan penambahan hidrogen.

B. Validasi Metode Docking

Validasi metode docking bertujuan untuk memastikan bahwa reseptor yang digunakan valid. Proses Validasi metode *molecular docking* dilakukan menggunakan aplikasi *Autodock Tools 1.5.6* dengan menambatkan ulang (*redocking*) *native ligand* protein HER-2 inhibitor dengan protein HER-2 yang sudah dipreparasi. Parameter validasi metode adalah nilai RMSD. Parameter validasi metode yang digunakan adalah nilai RMSD (Root Mean Square Deviation) yang merupakan pengukuran dua pose dengan membandingkan posisi atom antara struktur eksperimental dengan struktur yang *didocking*-kan pada protein (Ferwadi et al., 2017). Metode dikatakan valid apabila diperoleh nilai $RMSD \leq 3$ didapatkan menunjukkan bahwa metode yang digunakan telah valid (Artinda et al., 2016). Semakin kecil nilai RMSD yang diperoleh menunjukkan bahwa pose *ligand* yang diprediksi semakin baik karena semakin mendekati konformasi *native ligand*/konformasi asal (Ruswanto et al., 2018).

C. Preparasi Ligan

Pada preparasi ligan, struktur kimia terlebih dahulu digambar dengan menggunakan software MarvinSketch, kemudian dilakukan protonasi pada pH 7,4 agar pH nya sesuai dengan pH dalam darah. Ligan disimpan dengan tipe file mrv. Kemudian dilakukan conformational search untuk memperoleh posisi molekul yang paling stabil untuk berinteraksi dengan sisi aktif reseptor. Kemudian hasil pencarian konformasi disimpan dengan tipe file mol2. Prosedur di atas dilakukan untuk semua ligan (Purnomo, 2011; Ruswanto et al., 2015).



Gambar 1. Struktur 2D (a) Ligan (Kuersetin) dan (b) Senyawa Pembanding (2',6-diisopropyl quercetin)

D. Screening Ligand Based Drug Likeness

Drug Scan digunakan untuk mengamati sifat kesamaannya dengan obat yang telah ada (*Drug Likeness*) dilakukan menggunakan aturan *the rule of good medicine (Lipinski's rule of five)* dan bioavailabilitas oral dari ligan. Parameter yang digunakan diantaranya berat molekul <500 g/mol, lipofilitas <5, donor ikatan hidrogen <5, aseptor ikatan hidrogen <10 dan *refractory* molar antara 40-130. Parameter tersebut ditentukan menggunakan *software Chemdraw 3D* dan *chemdraw pro.12* (Saputra, 2018).

E. Docking Ligan Uji dan Visualisasi

Proses penambatan molekul dilakukan menggunakan *software AutoDockTools 1.5.6* dengan memasukkan protein target atau reseptor dan struktur senyawa uji. Kemudian senyawa uji di-*docking*-kan pada ligan binding site reseptor sesuai dengan gridbox yang telah dipakai pada proses validasi. Memasukkan nilai parameter Autogrid. Penambahan muatan pada ligan menggunakan Gasteiger, sedangkan hitungan algoritmanya menggunakan *Lamarckian Genetic* (Trott et al., 2010; Fuhrmann et al., 2010) dengan menjalankan sebanyak 10 kali. Hasil yang diperoleh dari proses docking ini adalah berupa *energy best ligand pose* atau berupa *binding affinity* senyawa atau ligan. Selanjutnya dari proses docking dapat dilihat interaksi antara ligan dengan sisi aktif reseptor menggunakan *software MMV* (Ruswanto, 2015). Kompleks ligan-reseptor yang terbentuk divisualisasikan dengan bantuan perangkat lunak *Discovery Studio Visualizer v17.2.0.1634*.

F. Analisis Data

Dilakukan analisis data dari hasil docking dengan menggunakan program *AutoDock Tools* dan *Discovery Studio Visualizer*. Parameter yang dianalisis yakni nilai energi pengikatan, serta interaksi ligan dan reseptor. Analisis hasil penambatan molekul dilakukan dengan memilih konformasi ligan yang memiliki energi ikatan bebas (ΔG) yang paling rendah. Penentuan konformasi ligan hasil penambatan dilakukan dengan memilih konformasi ligan yang memiliki energi ikatan yang paling rendah (posisi terbaik).

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Screening Ligand Based Drug Likeness

Proses distribusi obat terjadi dengan cara menembus membran biologis. Sehingga berat molekul memengaruhi kinerja obat dalam masuk ke dalam suatu membran sel. Berat molekul berkaitan dengan proses distribusi obat. Berbeda dengan obat yang memiliki bobot molekul kecil akan memudahkan untuk menembus membran biologis. Maka, dengan adanya ketentuan $BM < 500$ dapat meminimalisir adanya pemilihan *screening* obat yang akan dilakukan studi *in silico*.

Dalam konteks farmakokinetik, untuk obat yang diabsorpsi melalui oral, secara normal harus melewati *lipid bilayer* dalam epitelium intestinal. Agar sistem transport efisien, obat harus cukup hidrofobik untuk menembus ke dalam *lipid bilayer*, tetapi tidak boleh terlalu hidrofobik karena jika obat sudah masuk ke dalam *lipid bilayer*, tidak dapat menembus keluar lagi yang akan menyebabkan obat tersebut toksik karena bertahan lebih lama di dalam tubuh (Brito, 2011).

Berdasarkan hasil drug scan, terdapat 5 parameter pada aturan Lipinski's Rule of Five yang dapat memprediksi sifat fisikokimia dari suatu senyawa. Parameter yang digunakan diantaranya berat molekul <500 g/mol, lipofilitas <5, donor ikatan hidrogen <5, akseptor ikatan hidrogen <10, dan refractory molar antara 40-130 (Lipinski et al., 2012).

Ligan dan senyawa pembanding yang digunakan pada penelitian ini telah memenuhi kelima parameter pada aturan Lipinski's Rule of Five. Sehingga dalam penelitian kali ini, senyawa *native ligand* dengan senyawa pembanding memenuhi syarat dalam *screening* pada bagian $BM < 500$, sehingga dapat berpengaruh kedalam proses penembusan membran sel dengan protein tujuannya HER-2 inhibitor. Data penerapan aturan Lipinski dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji drug scan menurut aturan Lipinski's Rule of Five.

Nama Senyawa	Parameter				
	Berat molekul	Donor Proton	Akseptor Proton	Log P	Refractory Molar
	<500 g/mol	< 5	< 10	< 5	40-130
2-{2-[4-(5-chloro-6-(3(trifluoromethyl) phenoxy) pyridine) Quercetin	479.5	3	8	-0.4179	102.682
Quercetin	296	4	7	-0.9136	65.968
2',6-diisopropyl quercetin	385	4	7	3.2476	99.099

Berdasarkan Tabel 1 dapat dinyatakan bahwa 2-{2-[4-(5-chloro-6-(3-(trifluoromethyl) phenoxy) pyridine); Quercetin dan 2',6-diisopropyl quercetin ketiganya telah memenuhi kriteria aturan Lipinski's.

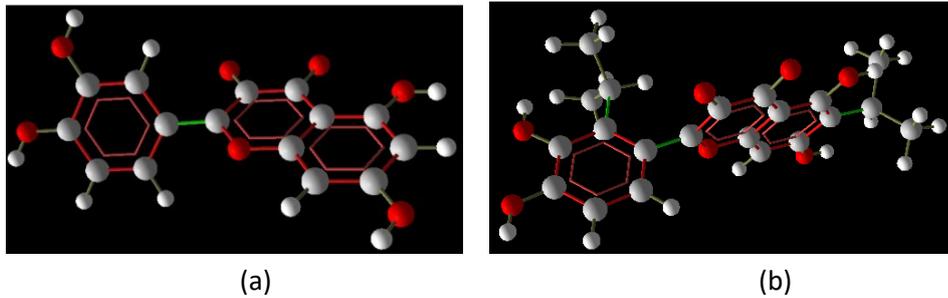
Nilai berat molekul berhubungan dengan proses distribusi obat yang terjadi dengan cara menembus membran biologis melalui proses difusi. Senyawa dengan berat molekul >500 g/mol akan sulit untuk menembus membran biologis sehingga waktu absorpsi obat akan membutuhkan waktu yang lama. Beda halnya dengan senyawa yang memiliki berat molekul lebih kecil akan lebih mudah menembus membran biologi (Adriani, 2018).

Nilai log P berhubungan dengan hidrofobisitas atau lipofilisitas suatu senyawa. Semakin besar nilai log P maka senyawa akan bersifat hidrofobik. Jika nilai $\log P > 5$ menyebabkan suatu senyawa akan lebih lama tinggal di lipid bilayer dan terdistribusi lebih luas di dalam tubuh. Hal ini menyebabkan selektivitas ikatan terhadap enzim target menjadi berkurang dan cenderung memiliki toksisitas yang lebih tinggi. Nilai log P senyawa tidak boleh negatif karena tidak dapat melewati membran lipid bilayer dan memungkinkan terjadi interaksi dengan pelarut air (Kilo et al., 2019).

Jumlah ikatan hidrogen pada donor dan akseptor berkorelasi dengan aktivitas biologis suatu senyawa. Semakin tinggi kapasitas ikatan pada donor dan akseptor, maka semakin tinggi energi yang dibutuhkan agar proses absorpsi dapat terjadi (Syahputra et al., 2014). Refractory molar adalah suatu nilai total polarisabilitas dari suatu molekul obat (Ruswanto, 2020), dimana suatu senyawa non polar dapat membentuk momentum agar senyawa dapat berikatan dengan reseptor dan sifat polar berfungsi agar sisa dari metabolisme senyawa dapat diekskresikan dari tubuh.

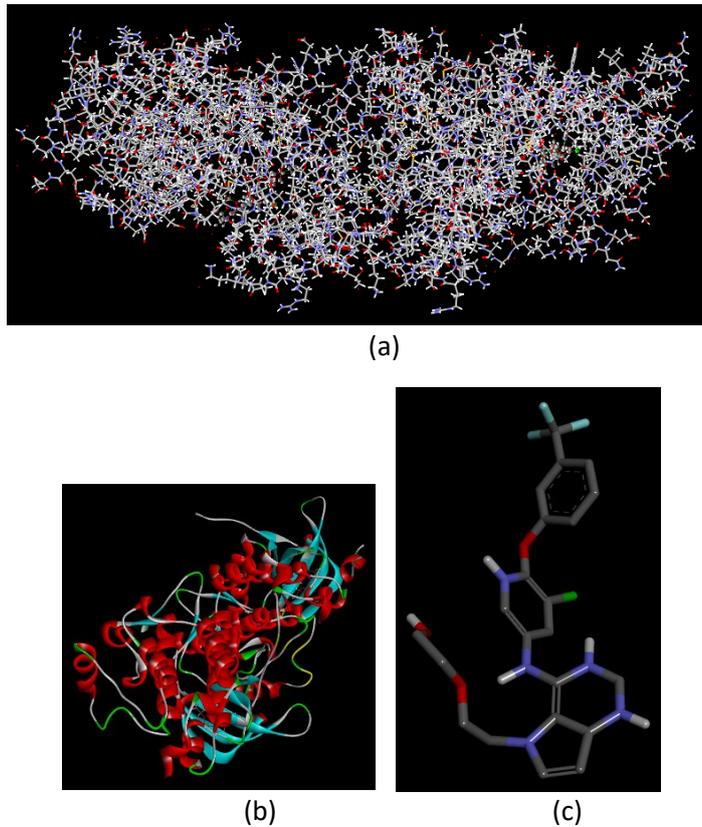
B. Optimasi Struktur 3 Dimensi Senyawa *Native Ligand* dan Senyawa Pembanding

Struktur 3 dimensi senyawa *native ligand* yang telah diunduh dilakukan optimasi dengan program *Pub chem* dengan metode komputasi serta tahapan optimasi yaitu optimasi geometri untuk mendapatkan struktur senyawa *native ligand* yang paling stabil. Untuk senyawa pembanding, sama halnya *native ligand*. Senyawa pembanding dilakukan optimasi dengan *pub chem* dengan metode komputasi *single point* dan optimasi geometri untuk mendapatkan struktur senyawa yang stabil. Keberhasilan optimasi senyawa *native ligand* dan senyawa pembanding ditandai dengan energi total hasil optimasi geometri lebih kecil dibandingkan energi total hasil kalkulasi *single point*. Hasil optimasi senyawa *native ligand* dan senyawa pembanding ditunjukkan pada **Gambar 2**.



Gambar 2. Hasil optimasi (a) Ligan (Kuersetin) dan (b) Senyawa Pemanding (2',6-diisopropyl quercetin)

C. Preparasi Protein HER-2 Inhibitor



Gambar 3. Protein HER-2 Inhibitor (a), Struktur 3 Dimensi Protein HER-2 tanpa ligan (b) dan *native ligand* Protein HER-2 (c)

Protein HER-2 inhibitor dipreparasi dengan memisahkan protein dengan *native ligand*-nya menggunakan program *Molegro Molecular Viewer* sehingga diperoleh struktur protein tanpa *native ligand* dan struktur *native ligand* yang terpisah seperti **Gambar 3**. Pemisahan protein dengan *native ligand* bertujuan untuk menyediakan pocket sebagai tempat senyawa uji berikatan dengan protein HER-2 inhibitor (Tang et al., 2008).

Preparasi reseptor dilakukan terhadap reseptor HER-2 inhibitor yang sebelumnya telah diunduh melalui <https://www.rcsb.org/> dan disimpan dalam bentuk format pdb. Reseptor yang telah diunduh dioptimasi menggunakan *Autodock Tools* dan *Molegro Molecular Viewer*. Pada umumnya struktur protein pada PDB mengandung molekul pelarut berupa air dan residu lainnya, sehingga diperlukan penghilangan molekul air agar tidak mengganggu pada saat simulasi docking dilakukan dan untuk memastikan bahwa yang

benar-benar berinteraksi adalah ligan dan reseptor. Penghilangan molekul air juga berfungsi untuk mempercepat proses perhitungan docking karena jika masih terdapat molekul air menempel pada protein proses perhitungan akan semakin lama. Selain itu, perlu ditambahkan hidrogen untuk menyesuaikan suasana docking agar mendekati pada pH 7 (Sari et al., 2020).

Rantai protein yang dipilih dalam pengujian ini adalah rantai A yang berikatan dengan *native ligand* 03Q (2 - {2-[4 - ({ 5 - chloro - 6 - [3 - (trifluoromethyl) phenoxy] pyridine - 3 -yl } amino) - 5H - pyrrolo [3,2 d] pyrimidin-5-yl] ethoxy } ethanol), yang berfungsi sebagai inhibitor HER-2 (Carpenter and Lo, 2013). Nantinya akan dilakukan docking pada quercetin dan dengan senyawa pembanding 2',6-diisopropyl quercetin.

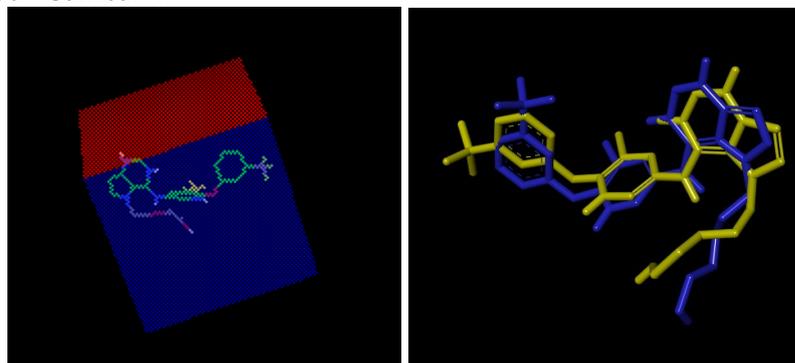
D. Docking Ligand Dan Senyawa Pembanding Pada Protein HER-2 Inhibitor

Docking senyawa *ligand* dan senyawa pembanding yang telah dioptimasi pada protein HER-2 inhibitor dilakukan menggunakan aplikasi *Autodock Tools 1.5.6* dengan prosedur dan koordinat yang sama seperti pada validasi metode yang telah tervalidasi. Reseptor yang digunakan yaitu HER-2 dengan kode ID PDB 3PP0. Hasil validasi docking ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Validasi Metode Docking

Kode PDB	Grid Box			RMSD (Å) ≤ 2	Binding affinity (kcal/mol)
	X	Y	Z		
3PP0	16.622	17.394	26.218	1.77	-8.89

Protein HER-2 (3PP0) dilakukan proses validasi reseptor (redocking) terlebih dahulu untuk membuktikan dan memastikan bahwa metode yang akan digunakan telah memenuhi syarat validitas dan dapat digunakan untuk pengujian senyawa lainnya serta dapat meminimalisir kesalahan. Metode docking dikatakan baik jika memiliki nilai Root Mean Square Deviation (RMSD) yang dihasilkan ≤ 2 Å. Hasil validasi metode docking dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 4.



Gambar 4. Konformasi native ligan HER-2 hasil validasi (Biru) dengan native ligan HER-2 hasil kristalografi (kuning)

Hasil penambatan molekul kuersetin dan 2',6-diisopropyl quercetin terhadap HER-2 pada tabel 3.

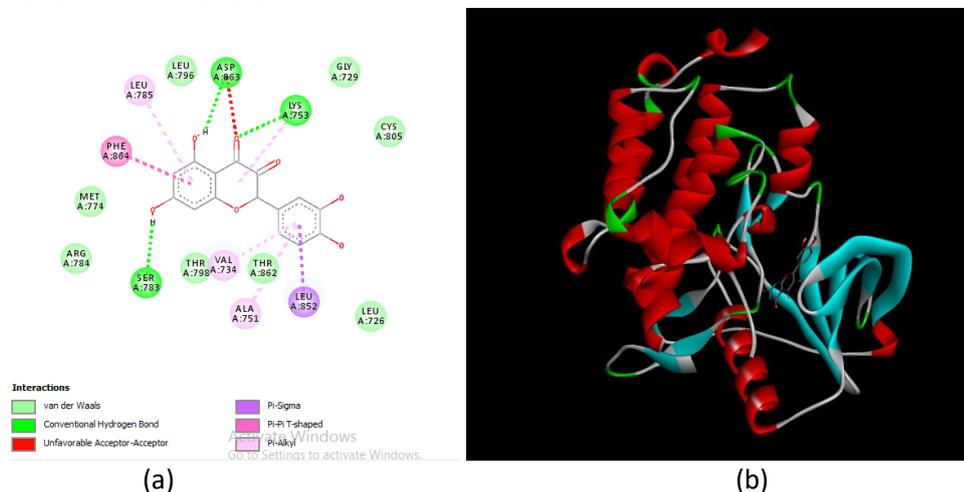
Tabel 3. Hasil penambatan quercetin dan 2',6-diisopropyl quercetin terhadap HER-2

Nama Senyawa	ΔG kkal/mol	Ki (μM)	Interaksi dengan Asam Amino	
			Ikatan Hidrogen	Ikatan Hidrofobik
Quercetin	- 6,59	14.78	ASP863; LYS753; SER783	ARG784; MET774; LEU796; THR798; THR862; LEU726; CYS805;GLY729 THR798;SER783;PHE864;LE U796;ASN850;ARG849;GLY7 29;GLY727;LEU726,ALA751; MET774;LEU852;LYS753;LE U785;VAL734;THR862
2',6-diisopropyl quercetin	- 8,4	699.02	ASP863; SER728	

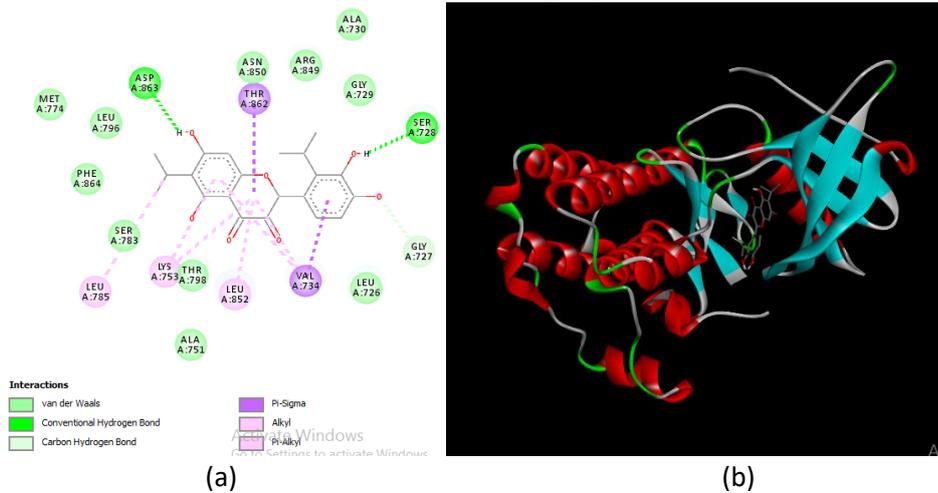
Berdasarkan Tabel 3, dapat diketahui afinitas ikatan antara ligan dengan reseptornya. Quercetin dan 2',6-diisopropyl quercetin memiliki nilai energi bebas (ΔG) yang lebih besar dibandingkan dengan senyawa pembanding antikanker payudara yaitu native ligan reseptor HER-2 (PDB:3PP0) yang bernilai -8,89 kkal/mol. Senyawa quercetin memiliki nilai energi bebas (ΔG) sebesar - 6.59 kkal/mol dengan Ki sebesar 14.78 μM . Sedangkan senyawa uji yaitu 2',6-diisopropyl quercetin memiliki nilai energi bebas (ΔG) sebesar - 8.4 kkal/mol dengan Ki sebesar 699.02 μM , sehingga tingkat afinitas quercetin terhadap HER-2 lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa 2',6-diisopropyl quercetin. Hal ini menunjukkan bahwa quercetin diprediksi mempunyai interaksi yang stabil dan lebih kuat sebagai obat antikanker payudara daripada derivatnya yaitu 2',6-diisopropyl quercetin.

Interaksi ligan pada kantung aktif reseptor perlu untuk diidentifikasi agar dapat menentukan ikatan yang terjadi antara ligan dengan residu asam amino dari reseptor HER-2. Semakin banyak interaksi ikatan hidrogen antara senyawa dengan residu asam amino maka diprediksi interaksinya akan semakin stabil dan baik. Ikatan yang perlu diperhatikan adalah ikatan hidrogen antara ligan dengan residu asam amino His524 dikarenakan dapat menentukan suatu ligan bersifat agonis atau antagonis. HER-2 memiliki Ligand Binding Domain (LBD) atau sisi pengikatan ligan yang didominasi oleh daerah hidrofobik yang menyusun helix 3, 6, 7, 8, 11, dan 12. Senyawa bersifat agonis apabila memiliki interaksi ikatan hidrogen dengan His524 yang menyebabkan helix-12 terbuka dan berikatan dengan koaktivator sehingga senyawa bersifat agonis begitu pula sebaliknya. Senyawa akan bersifat antagonis ketika tidak memiliki interaksi ikatan hidrogen dengan His524 (Muchtaridi et al., 2014). Hasil penelitian menunjukkan bahwa quercetin dan 2',6-diisopropyl quercetin diprediksi bersifat antagonis dikarenakan tidak membentuk interaksi ikatan hidrogen dengan His524.

Senyawa pembanding pada protein HER-2 inhibitor berbeda, akan tetapi mampu dikategorikan sebagai senyawa anti kanker payudara sebagaimana mestinya ditunjukkan pada **Gambar 5** dan **Gambar 6**.



Gambar 5. (a) Hasil docking senyawa *ligand* (quercetin) dengan protein BCL-2 inhibitor 2D dan (b) Hasil *docking* senyawa *ligand* dengan protein BCL-2 inhibitor 3D



Gambar 6. (a) Hasil *docking* senyawa pembanding (2',6-diisopropyl quercetin) dengan protein BCL-2 inhibitor 2D, (b) Hasil *docking* senyawa pembanding dengan protein BCL-2 inhibitor 3D

Hasil docking molekular ligand dan reseptor diwujudkan dengan adanya kompleks interaksi molekular keduanya. Berdasarkan ada tidaknya kompleks interaksi molekular kedua senyawa tersebut dapat dilihat adakah suatu ligand dapat berikatan dengan reseptor target. Berikut merupakan gambar 3D hasil docking menggunakan docking server.

Kompleks interaksi molekular yang merepresentasikan kemampuan ligand berikatan dengan reseptor target belum cukup untuk dapat memprediksikan efektivitas ikatan keduanya. Setidaknya ada 3 parameter yang dapat dilihat apakah interaksi keduanya cukup kuat dan memiliki aktivitas penghambatan. Tiga parameter tersebut antara lain yaitu: 1) Interaksi permukaan (interaction surface); 2) Besar nilai energi ikatan bebas (Free energy of binding); 3) Besar nilai konstanta inhibisi (Inhibition constant =Ki). Interaksi permukaan merupakan parameter yang menunjukkan luas area penambatan ligand dengan reseptor. Semakin besar nilai interaksi permukaan, maka semakin kuat ikatan kompleks ligand dan reseptor. Besar energi ikatan bebas merupakan besar energi yang dibutuhkan bagi kompleks molekular untuk berikatan. Hal ini sangat penting dalam menentukan kestabilan ikatan kompleks ligand reseptor. Semakin kecil energi ikatan bebas maka semakin stabil ikatan kompleks tersebut. Energi ikatan bebas yang kecil (semakin negatif), maka ketika kompleks tersebut terpisah untuk dapat melekat kembali tidak membutuhkan energi yang besar. Nilai konstanta inhibisi merupakan nilai yang digunakan sebagai acuan dalam menentukan efektivitas penghambatan ligand terhadap aktivitas reseptor. Nilai konstanta inhibisi dikatakan semakin baik jika nilainya semakin kecil. Semakin kecil nilai Ki menunjukkan bahwa semakin kecil konsentrasi molekular yang dibutuhkan untuk dapat menghambat reseptor target. Tabel 1 berikut ini merupakan hasil pengukuran energi dari docking molekular eugenol, gefitinib, dan Her-2:

HER-2 merupakan salah satu reseptor yang aktif pada kanker terutama dalam menginduksi proliferasi dan siklus sel pada jalur PI3K dan Akt (Ono et al., 2004). Sehingga dalam hal ini reseptor HER-2 berperan sebagai target dari terapi. Beberapa obat kanker banyak dikembangkan dengan menghambat aktivitas reseptor HER-2 seperti Trastuzumab (herceptin) dan gefitinib. Herceptin memiliki aktivitas dalam menghambat HER-2 sedangkan gefitinib memiliki aktivitas tyrosine kinase dan reseptor HER-2. Herceptin banyak digunakan pada kanker payudara (Devita et al., 2011), sedangkan gefitinib banyak terbukti aktif dan

menyebabkan respon sensitive pada reseptor HER-2 di NSCLC (Soh et al., 2007; Hirata et al., 2005).

Hal terpenting dalam kompleks molekuler yaitu kestabilan ikatan antar molekuler yang dapat ditandai dengan nilai energi ikatan bebas. Semakin kecil nilai ikatan bebas maka semakin sulit interaksi antar molekuler dapat terlepas. Hal ini menunjukkan bahwa kompleks molekuler akan semakin stabil. Nilai energi ikatan bebas kompleks 2',6-diisopropylquercetin dan HER-2 kecil yaitu -8.4 kkal/mol. Nilai energi ikatan bebas ini cukup baik terbukti hampir mendekati nilai energi ikatan bebas kompleks kontrol quercetin dengan HER-2 yang besarnya -6.59 kkal/mol.

Berdasarkan hasil docking menggunakan docking server diketahui posisi interaksi antara ligan dan reseptor. 2',6-diisopropylquercetin dapat membentuk ikatan polar dengan HER-2 pada asam amino Aspirin (863) dan Serin (728). Selain itu, 2',6-diisopropylquercetin dapat membentuk ikatan hidrofobik dengan HER-2 pada asam amino Treonin (798), Serin (783), Fenilalanin (864), Leusin (796), Asparagin (850), Arginin (849), Glisin (729), Glisin (727), Leusin (726), Alanin (751), Metionin (774), Leusin (852), Lisin (753), Leusin (785), Valin (734) dan Treonin (862). Adanya ikatan kovalen polar pada kompleks molekuler 2',6-diisopropylquercetin dan HER-2 menunjukkan bahwa kompleks ini memiliki ikatan yang kuat. Aktivitas kompleks molekuler yang diharapkan dari ikatan ini adalah penghambatan ligan terhadap reseptor yang ditentukan dari nilai konstanta inhibisi (Ki). Nilai konstanta inhibisi menunjukkan efektivitas molekuler dalam menghambat reseptor target. Semakin kecil nilai Ki maka semakin efektif molekuler dalam menghambat reseptor target.

Berdasarkan hasil docking diketahui bahwa 2',6-diisopropylquercetin memiliki nilai Ki sebesar 699.02 μ M. Hasil ini menunjukkan bahwa 2',6-diisopropylquercetin memiliki aktivitas penghambatan terhadap HER-2 meskipun efektivitas quercetin lima ratus kali lebih baik (14.78 μ M). Berdasarkan hasil studi ini diketahui bahwa 2',6-diisopropylquercetin mampu berikatan dengan reseptor HER-2 dengan stabil dan memiliki efek penghambatan pada reseptor tersebut walaupun ikatannya tidak sebaik quercetin. Studi *in silico* ini membutuhkan studi lanjutan di laboratorium untuk mengetahui lebih jauh mengenai adanya interaksi antara eugenol dengan HER-2 serta mengetahui efek biologi yang disebabkan oleh interaksi tersebut terutama untuk menurunkan prognosivitas kanker NSCLC. Hal ini sangat penting sebagai studi awal diketahui potensi senyawa eugenol daun basil untuk menurunkan prognosivitas kanker melalui reseptor HER-2 yang bekerja pada transduksi sinyal pertumbuhan di Akt pathway.

KESIMPULAN

Secara *in silico*, senyawa quersetin dan 2',6-diisopropyl quersetin teruji mampu berikatan kuat dan stabil dengan reseptor HER-2 serta memiliki kemampuan penghambatan terhadap reseptor tersebut. Hasil studi *in silico* ini menunjukkan bahwa senyawa quercetin lebih poten dan stabil dibandingkan senyawa 2',6-diisopropyl quersetin dalam menghambat HER-2 pada kanker payudara yang ditunjukkan melalui konstanta inhibisi dan energi bebas yang terbentuk pada protein HER-2.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada dosen-dosen, keluarga penulis, teman-teman dan semua pihak yang telah sangat membantu dalam penelitian ini yang telah berpartisipasi dalam penyusunan hasil artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

Franklin *et al.* (2004) 'Insights into ErbB signaling from the structure of the ErbB2-pertuzumab complex', *Cancer Cell*, 5(April), pp. 317–328.
Lykkesfeldt, A. E., Madsen, M. W. and Briand, P. (1994) 'Altered Expression of Estrogen-

- regulated Genes in a Tamoxifen-resistant and ICI 164,384 and ICI 182,780 Sensitive Human Breast Cancer Cell Line, MCF-7/TAMR-I', *Cancer Research*, 54(6), pp. 1587–1595.
- M. B. O. Rastini, N. K. M. Giantari, K. D. Adnyani¹, dan N. P. L. L. (2019) 'MOLECULAR DOCKING AKTIVITAS ANTIKANKER DARI KUERSETIN TERHADAP KANKER PAYUDARA SECARA IN SILICO', *JCHEM*, 13(02), pp. 180–183. doi: <https://doi.org/10.24843/>.
- Paulsson, A. K., Sherertz, T. and Park, C. C. (2018) 'Breast cancer', *Handbook of Evidence-Based Radiation Oncology*, pp. 343–399. doi: 10.1007/978-3-319-62642-0_17.
- Ring, A. and Dowsett, M. (2004) 'Mechanisms of tamoxifen resistance', *Endocrine-Related Cancer*, 11(4), pp. 643–658. doi: 10.1677/erc.1.00776.
- Seo, H. S. *et al.* (2016) 'Quercetin induces caspase-dependent extrinsic apoptosis through inhibition of signal transducer and activator of transcription 3 signaling in HER2-overexpressing BT-474 breast cancer cells', *Oncology Reports*, 36(1), pp. 31–42. doi: 10.3892/or.2016.4786.
- Wach, A., Pyrzyńska, K. and Biesaga, M. (2007) 'Quercetin content in some food and herbal samples', *Food Chemistry*, 100(2), pp. 699–704. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.10.028.
- Wind, N. S. and Holen, I. (2011) 'Multidrug Resistance in Breast Cancer: From In Vitro Models to Clinical Studies', *International Journal of Breast Cancer*, 2011, pp. 1–12. doi: 10.4061/2011/967419.
- Ruswanto, R. (2015). Molecular Docking Empat Turunan Isonicotinohidrazide Pada Mycobacterium Tuberculosis Enoyl-Acyl Carrier Protein Reductase (InhA). *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-Ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan Dan Farmasi*, 13(1), 135–141. <https://doi.org/10.36465/jkbth.v13i1.25>
- Purnomo Hari. (2011). *Kimia Komputasi : Molecular Docking PLANTS*. Yogyakarta : Pustaka Pelajar.
- Sari, I.W., Junaidin, Pratiwi, D. (2020). Studi Molecular Docking Senyawa Flavonoid Herba Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus* B.) pada Reseptor α -Glukosidase sebagai Antidiabetes Tipe 2. Sekolah Tinggi Farmasi Muhammadiyah Tangerang. <http://dx.doi.org/10.47653/farm.v7i2.194>.
- Hirata, A., Hosoi, F., Miyagawa, M., Ueda, S., Naito, S., Fujii, T., Kumano, M., Ono, M. 2005. HER2 Overexpression Increases Sensitivity to Gefitinib, an Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor, through Inhibition of HER2/HER3 Heterodimer. *Cancer Res*. 65: 42534260.
- Soh, J., Toyooka, S., Ichihara, S. Fujiwara, Y., Hotta, K., Suehisa, H., Kobayasi, N., Acem K., Ace, M., Kiura, K., Date, H. 2007. Impact of HER2 and EGFR Gene Status on Gefitinib-treated Patients with Non-Small Cell Lung Cancer. *Int. J. Cancer*. 121: 1162-1167
- Seo et al, 2016, Quercetin Induces CaspaseDependent Extrinsic Apoptosis Through Inhibition of Signal Transducer and Activator of Transcription 3 Signaling in HER 2-Overexpressing BT474 Breast Cancer Cells. *Oncology Report*, 36: 31-42.
- American Cancer Society. 2017. *Breast Cancer Treatment Guideline*. Atlanta: American Cancer Society.