

**Studi *In Silico* Senyawa Kaempferol Pada Herba Kelakai (*Stenochlaena palustris* (Burm. f.) Bedd.) sebagai Kandidat Antikanker Payudara**

***In Silico Study of Kaempferol Compounds in Herbs as Candidates Anti-Breast Cancer***

Nita Astuti<sup>1</sup>, Resti Anggraeni Safitri<sup>2</sup>, Mila Andriani<sup>3</sup>, Ariyanti Agustina<sup>4</sup>

Program Studi Farmasi, STIKes Bakti Tunas Husada, Jl. Clolohan No. 36 Tasikmalaya, Jawa Barat 46115, Indonesia

\*Corresponding author email: [nitaa2126@gmail.com](mailto:nitaa2126@gmail.com)

Received 8-10-2021

Accepted 11-11-2021

Available online 15-12-2021

**ABSTRAK**

Kanker payudara merupakan penyakit genetik, akibat akumulasi kelainan genetik dalam jaringan. Kaempferol dan turunan glikosilasinya telah terbukti bersifat kardioprotektif, neuroprotektif, antiinflamasi, antidiabetes, antioksidan, antimikroba, antitumor, dan memiliki aktivitas antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan penambatan molekul senyawa turunan flavanoid yaitu kaempferol untuk pencarian kandidat bahan baku obat antikanker secara *in silico*. Metode yang digunakan berupa screening *Lipinski's Rule of Five*, farmakokinetika dan penambatan molekul. Hasil menunjukkan bahwa kaempferol memiliki kemampuan sebagai penghambat protein dari reseptor EGFR dengan adanya ikatan hidrogen dengan residu asam amino. Pada hasil didapatkan nilai RMSD dari *native ligand* yaitu 1.05 Å yang berarti bahwa metode *molecular docking* dapat diterima atau tervalidasi. Ligan uji kaempferol memiliki ikatan hidrogen terhadap residu asam amino dari protein CDK2.

**Kata kunci:** kaempferol, antikanker, studi *in silico*

**ABSTRACT**

Breast cancer is a genetic disease, resulting from the accumulation of genetic disorders in the tissue. Kaempferol and its glycosylated derivatives have been shown to have cardioprotective, neuroprotective, anti-inflammatory, antidiabetic, antioxidant, antimicrobial, antitumor, and anticancer activities. This study aims to anchor the molecule of a flavonoid derived compound, namely kaempferol, to search for candidates for raw materials for anticancer drugs in silico. The methods used are Lipinski's Rule of Five screening, pharmacokinetics and molecular anchoring. The results showed that kaempferol had the ability as a protein inhibitor of the EGFR receptor in the presence of hydrogen bonds with amino acid residues. The result shows that the RMSD value of the native ligand is 1.05 Å, which means that the molecular docking method can be accepted or validated. The test ligand kaempferol has hydrogen bonds to the amino acid residues of the CDK2 protein.

**Key words:** kaempferol, anti-cancer, *in silico* study

## Pendahuluan

Upaya untuk pengembangan obat yang telah ada harus dilakukan dengan rancangan obat. Rancangan obat berarti mendapatkan obat baru dengan aktivitas yang lebih baik dan memiliki toksisitas yang lebih rendah melalui pemodelan molekul. Pemodelan molekul atau disebut juga uji *in silico* yang memiliki peran sangat penting dalam dalam rangka merancang, menemukan dan optimasi senyawa bioaktif pada proses pengembangan obat (Siswandono, 2014).

Cara melakukan uji *in silico* adalah dengan docking molekul yang akan diprediksi aktivitasnya pada sel target yang dipilih. Docking adalah suatu upaya untuk menselaraskan antara ligan yang merupakan molekul kecil ke dalam sel target yang merupakan molekul protein yang besar. Uji *in silico* menghasilkan nilai energi ikatan atau Rank Score (RS). Energi ikatan menunjukkan jumlah energi yang dibutuhkan untuk membentuk ikatan antara ligan dengan reseptor. Semakin kecil energi ikatan berarti semakin stabil ikatan tersebut. Semakin stabil ikatan ligan dengan reseptor maka dapat diprediksikan bahwa aktivitasnya juga semakin besar (Siswandono, 2016)

Berdasarkan Data GLOBOCAN, International Agency for Research on Cancer (IARC), diketahui bahwa pada tahun 2012 terdapat 14.067.894 kasus baru kanker dan 8.201.575 kematian akibat kanker di seluruh dunia. kanker payudara, kanker prostat, dan kanker paru merupakan jenis kanker dengan persentase kasus baru (setelah dikontrol dengan umur) tertinggi. Sementara itu, kanker paru dan kanker payudara merupakan penyebab kematian (setelah dikontrol dengan umur) tertinggi akibat kanker. Pada penduduk perempuan,

kanker payudara masih menempati urutan pertama kasus baru dan kematian akibat kanker, yaitu sebesar 43,3% dan 12,9%.

Penemuan obat dari tumbuhan terus berlanjut dan memberikan arahan baru yang penting terhadap berbagai target farmakologi salah satunya penyakit kanker. Kanker atau tumor ganas merupakan salah satu penyakit yang sampai saat ini masih belum dapat ditangani secara tuntas meskipun berbagai metode pengobatannya telah dikembangkan oleh pakar ilmu kedokteran. Kanker termasuk penyakit yang sangat ditakuti karena sulit disembuhkan, bahkan tidak jarang menyebabkan kematian. Secara sederhana, kanker berarti pertumbuhan sel-sel tubuh yang tidak terkendali atau abnormal (Yudistira, 2017). Kanker payudara merupakan penyakit genetik, akibat akumulasi kelainan genetik dalam jaringan. Pada penderita kanker payudara yang baru terdiagnosa dapat ditemukan adanya mutasi. Sel kanker payudara memiliki beberapa jenis untuk diteliti, salah satunya adalah sel T47D (*human ductal breast epithelial tumor cell line*). Sel T47D adalah model sel kanker payudara yang belum resisten terhadap agen kemoterapi doksorubisin, tetapi diketahui memiliki protein p53 yang telah termutasi. Jika p53 tidak dapat mengikat respon elemen pada *Deoxyribo Nucleic Acid* (DNA), maka akan mengurangi atau menghilangkan kemampuannya dalam meregulasi siklus sel dan menginduksi apoptosis (Yudistira, 2017). Terapi obat-obat kanker biasanya memiliki efek samping. Adanya efek samping yang tidak dikehendaki selama pengobatan menggunakan obat antikanker merupakan masalah global dan belum dapat dihindari. Pasien yang menerima obat antikanker kombinasi fluorourasil,

doksorubisin, dan siklofosfamid selama pengobatan kanker payudara mengalami kerontokan rambut, perubahan warna kuku, perubahan indra perasa, penurunan nafsu makan, mual, dan ketidaknormalan syaraf (Saini *et al.*, 2015).

Saat ini, penelitian terhadap penanganan kanker mulai diarahkan pada pengujian potensi bahan alam sebagai agen kemopreventif. Salah satu tumbuhan yang dapat dikembangkan yaitu herba kelakai (*Stenochleana palustris* (Burm.f.) Bedd.). Telah diketahui bahwa daun kelakai mengandung senyawa bioaktif kaempferol yang memiliki mekanisme menghambat proliferasi sel dan mengatur gen supresor tumor yang berperan penting dalam siklus sel dan p53 pada sel kanker.

Kaempferol merupakan salah satu flavonoid aglikon yang paling banyak ditemui dalam bentuk glikosida. Merupakan tetrahidroksiflavon yang keempat gugus hidroksinya terletak pada posisi 3, 5, 7, dan 4', dan merupakan senyawa berwarna kuning. Kaempferol ditemukan di berbagai bagian tanaman, seperti biji, daun, buah, bunga, bahkan sayuran. Kaempferol dan turunan glikosilasinya telah terbukti bersifat kardioprotektif, neuroprotektif, antiinflamasi, antidiabetes, antioksidan, antimikroba, antitumor, dan memiliki aktivitas antikanker. Pada konsentrasi mikromolar, kaempferol secara efektif menghambat pertumbuhan garis sel kanker payudara (Imran *et al.*, 2019). Penelitian ini bertujuan untuk melakukan penambatan molekul senyawa turunan flavonoid yaitu kaempferol untuk pencarian kandidat bahan baku obat antikanker.

## **Metode Penelitian**

### **Alat**

Peralatan yang digunakan yaitu seperangkat laptop dengan spesifikasi Window 10 Home Single Language 64-bit *Processor Intel(R) Celeron (R) N4000 CPU* yang dilengkapi Software diantaranya *Autodock Tools 1.5.6*, *Discovery Studio Visualizer*, *Molegro Molecular Viewer* dan *Marvin Sketch 21.19* serta berbasis web.

### **Bahan**

Struktur senyawa ligan kaempferol diunduh dari situs *PubChem* dengan format *pdb* (<http://PubChem.ncbi.nlm.nih.gov>) lalu di paste ke software *Marvin Sketch*, struktur 3 dimensi dari reseptor Her 2 (dengan PDB ID : 4RJ3) diunduh dari *Protein Data Bank*.

## **Prosedur penelitian**

### **Penyiapan struktur protein dan struktur ligan.**

Pengunduhan reseptor dari Protein Data Bank dengan format *.pdb* (PDB ID : 4RJ3). Pengunduhan molekul ligan dari *PubChem* dengan format *.pdb*.

### **Penentuan Grid box**

Tahapan penambatan molekuler dilakukan antara situs aktif EGFR yaitu daerah yang berinteraksi dengan ligan. Sebelum melakukan penambatan molekul, perlu disiapkan ukuran Grid Box dalam *Autodock Tools 1.5.6*. Penentuan grid box dilakukan untuk mengetahui titik koordinat pada active site dari EGFR dengan menggunakan software *Autodock Tools*.

### **Preparasi file penambatan molekul**

Merubah format file ligan menjadi .pdbqt dan reseptor yang dioptimasi dengan penambahan atom hidrogen menjadi .pdbqt dengan menggunakan software Autodock Tools kemudian data disimpan.

### **Penambatan molekul dengan Autodock**

Ligan dan protein yang telah tersimpan dalam format .pdbqt dicopy ke dalam folder vina, kemudian config file vina diketik pada notepad, disimpan dengan nama .conf. File config berisi data terkait dengan nama reseptor, ligan, ukuran box, dan center box. Proses penambatan molekul dengan vina dijalankan melalui command prompt dengan parameter yang sesuai.

### **Penambatan molekuler**

Penambatan molekul (docking) menggunakan aplikasi *Autodock Tools* dan memerlukan file enzim, ligan dan config. Penambatan molekul mulai dijalankan di Command prompt dalam folder yang terdapat file enzim, ligan dan file config. Proses penambatan molekul dijalankan dalam program vina. Setelah docking selesai akan diperoleh hasil beberapa mode docking beserta nilai *Affinity* (kkal/mol).

### **Analisis hasil penambatan molekuler**

Analisis hasil docking meliputi nilai *affinity* dari beberapa mode hasil docking yang dapat dilihat dalam file Log.txt yang diperoleh. Analisis kedua yaitu melihat posisi ligan dari beberapa mode tersebut menggunakan software pymol. File enzim, ligan dan output docking dibuka dalam software pymol. Mode yang paling mirip dengan posisi

ligan asli merupakan mode dengan pose terbaik.

### **Visualisasi**

Visualisasi interaksi antara enzim dengan ligan dapat dilihat pada software *Discovery Studio Visualizer*. Visualisasi yang dilakukan dengan melihat residu-residu asam amino yang dihasilkan.

### **Validasi docking**

Validasi dilakukan tanpa adanya air karena secara teoritis air akan menghalangi ikatan ligan dengan reseptornya karena air dapat membentuk ikatan hidrogen dengan reseptor. Program validasi dilakukan dengan cara membandingkan struktur native ligand dengan struktur hasil redocking. Analisis data perbandingan nilai dinyatakan dengan RMSD (Rate Mean Square Deviation). Metode docking dikatakan baik jika nilai RMSDnya lebih kecil atau sama dengan 2 Å. Jika nilai RMSD yang diperoleh lebih besar dari 2 Å, metode yang digunakan tidak dapat dipercaya (Mardianingrum *et al.*, 2021).

### **Analisis Drug Scan**

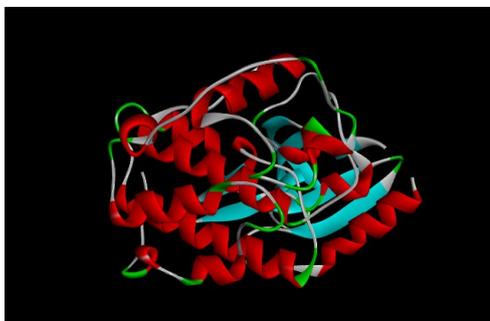
Analisis drug scan dilakukan dengan mempertimbangkan aturan obat yang baik (*Lipinski's rule of five*). Parameter aturan Lipinski ditentukan menggunakan perangkat lunak MarvinSketch. Selain itu, dilakukan dengan *pkCSM* untuk memper timbangkan kriteria farmakokinetik dari senyawa calon obat tersebut.

## Hasil dan Pembahasan

### Preparasi Struktur 3D Protein *Cyclin-dependent kinase 2 (CDK2)*

Protein dari CDK2 dipisahkan terlebih dahulu dari *native ligand*-nya menggunakan software Molegro Molecular Viewer, lalu setelah dipisahkan *native ligand* dan protein ditambahkan hidrogen serta dihilangkan air beserta kofaktornya, dapat dilihat dari gambar 1 dan 2. Menurut (Rastini *et al.*, 2019) pemisahan dari protein dengan *native ligand*-nya bertujuan agar menyediakan tempat untuk ligan uji yaitu kaempferol untuk dapat berikatan dengan protein CDK2. Rantai protein yang diambil dalam pengujian ini yaitu rantai A yang berikatan dengan *native ligand* 1-cyclopentyl-N-[2-(4-methoxy piperidin-1-yl)pyrimidin-4-yl]-1H-pyrrolo [3,2-c]pyridin-6-amine.

**Gambar 1** Visualisasi 3D protein sesudah dipisah.



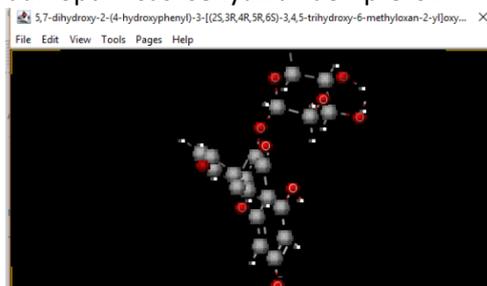
**Gambar 2** Visualisasi 3D *native ligand* setelah dipisah.



### Preparasi Struktur 2D Senyawa Kaempferol

Struktur 2D kaempferol yang diambil dari *Pubchem* yang berupa struktur *SMILES* dioptimasi dan protonisasi dengan menggunakan software *Marvin Skeyth* dengan diprotonisasi pada pH 7,4 dengan metode *Major Microspecies (MMFF94)* agar sesuai dengan pH darah. Setelah itu struktur dari kaempferol dilakukan *Conformational search* agar didapatkan struktur dari kaempferol yang paling sesuai dan cocok dengan reseptor atau protein dari CDK2 (Ruswanto, Garna, *et al.*, 2018). Metode *conformers* digunakan untuk mendapatkan konformasi struktur ligan dari senyawa kaempferol, didapatkan sekitar 10 konformasi ligan lalu diambil konformasi ligan yang memiliki energi paling kecil yaitu 140.81 kcal/mol struktur dapat dilihat pada gambar 3.

**Gambar 3** Visualisasi 3D hasil protonisasi dan optimisasi senyawa kaempferol.

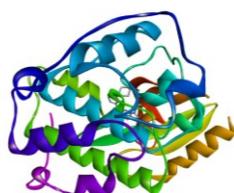


### Validasi Metode

Pada validasi metode ini melibatkan *redocking* antara *native ligand* dengan protein dari reseptor EGFR prosedur validasi metode ini juga akan digunakan pada saat penambatan antara protein dengan ligan uji. Output yang didapatkan dari validasi metode ini adalah nilai RMSD, nilai RMSD dinyatakan valid apabila hasil test *ligand* diperoleh hasil kurang dari atau sama dengan 2 (Ruswanto, Mardianingrum, *et al.*, 2018). Pada hasil didapatkan nilai

RMSD dari native ligand yaitu 1.05 Å yang berarti bahwa metode *molecular docking* dapat diterima atau tervalidasi. Visualisasi dari validasi metode dapat dilihat dari gambar 4.

**Gambar 4.** Visualisasi hasil validasi metode *docking*



#### Hasil Docking Ligan Uji dan Visualisasi Interaksi terhadap Protein Target

**Tabel 1** Hasil *Docking Native Ligand* pada Protein CDK2 dengan Ligan Uji Kaempferol

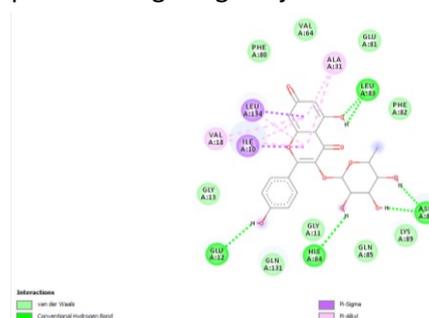
| Protein Target | Ligand        | Binding Energy ( $\Delta G$ ) |
|----------------|---------------|-------------------------------|
| CDK – 2        | Native Ligand | -8.91 kcal/mol                |
|                | Kaempferol    | -8.77 kcal/mol                |

Hasil *binding energy* ( $\Delta G$ ) dari senyawa kaempferol dan native ligan sama – sama bernilai negatif akan tetapi nilai dari binding energi ligan uji lebih besar yaitu (-8.77 kcal/mol) dibandingkan dengan *binding energy* dari *native ligand* (-8.91 kcal/mol) hal ini menunjukkan bahwa ikatan dari ligan uji lebih lemah dibandingkan dengan ikatan *native ligand* terhadap protein CDK – 2, meskipun ikatan dari ligan uji lemah akan tetapi ligan uji dapat berikatan dengan reseptor dari CDK – 2.

**Tabel 2** Hasil Visualisasi Interaksi Ligan pada Reseptor 4RJ3

| Senyawa       | Jumlah ikatan hidrogen | Jarak (Å <sup>o</sup> ) | Asam Amino yang Berikatan |
|---------------|------------------------|-------------------------|---------------------------|
| Senyawa alami | 1                      | 1,05                    | LEU A:83                  |
| Kaempferol    | 4                      | 50,04                   | GLU A:12                  |
|               |                        | 50,07                   | HIS A:84                  |
|               |                        | 49,97                   | ASP A:86                  |
|               |                        | 49,97                   | LEU A:83                  |

**Gambar 5** Visualisasi interaksi 2D antara protein dengan ligan uji



Terlihat pada gambar 5 ligan uji kaempferol memiliki ikatan hidrogen terhadap residu asam amino dari protein CDK2 yaitu (GLU A:12), (HIS A:84), (ASP A:86) dan (LEU A:83).

#### DrugScan

Pada *DrugScan* dilakukan dengan *pkCSM* untuk memprediksi farmakokinetik (ADMET) diakses melalui website : <http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsml/> dan *Lipinski's rule of five* yang diakses melalui website : <http://www.scfbio-iitd.res.in>.

#### pkCSM

Berdasarkan hasil data tersebut memiliki nilai Caco-2 permeability sebesar 0,401. Tergolong kedalam permeabilitas yang rendah karena berdasarkan teoritis permeabilitas dikatakan tinggi jika memiliki nilai > 0.90. Dilihat dari nilai HIA

absorption memiliki nilai sebesar 56.953 yang tergolong kedalam absorpsi yang baik karena di atas 30%. Nilai BBB Permeability dikatakan baik jika memiliki nilai > -1. Dilihat dari uji hepatotoxicity senyawa tersebut tidak hepatotoksik. Hasil dari uji senyawa kaempferol dapat dikatakan memenuhi semua parameter yang digunakan untuk menjadi calon obat, dapat dilihat pada tabel 2.

#### **Lipinski's rule of five**

Salah satu pengujian yang biasa dipakai untuk screening molekul obat harus memenuhi parameter *Lipinski's rule of five*, diantaranya:

- 1) BM : < 500 Dalton
- 2) Log P : < 5
- 3) Donor ikatan hidrogen : < 5
- 4) Akseptor ikatan hidrogen : <10
- 5) Refraktori molar : rentang 40-130

Berdasarkan data pada tabel 3, senyawa dari kaempferol memenuhi parameter *Lipinski's rule of five*.

**Tabel 3** Hasil Analisis Farmakokinetik

| Ligands    | Caco2 Cells Permeability | HIA Absorption | BBB Permeability | Hepatotoxicity |
|------------|--------------------------|----------------|------------------|----------------|
| Kaempferol | 0.401                    | 56.953         | -1.254           | No             |

**Tabel 4** Hasil *DrugScan Lipinski's* senyawa kaempferol

| Senyawa    | Molecular Mass | High Lipophilicity | Hydrogen Bond Donors | Hydrogen Bond Acceptor | Molar Refractivity |
|------------|----------------|--------------------|----------------------|------------------------|--------------------|
|            | <500 g/mol     | Log P <5           | <5                   | <10                    | 40 – 130           |
| Kaempferol | 431 g/mol      | 0.061              | 5                    | 10                     | 101                |

#### **Simpulan**

Berdasarkan hasil dan pembahasan diatas dapat ditarik kesimpulan bahwa senyawa kaempferol telah memenuhi parameter-parameter sebagai calon obat dimulai dari *DrugScan* dengan *PkCSM* dan *Lipinski rule of five*. Ligan uji dari senyawa kaempferol juga memiliki kemampuan sebagai penghambat protein dari reseptor EGFR dengan adanya ikatan hidrogen dengan residu asam amino meskipun tidak sebaik *native ligand*-nya.

#### **Pustaka**

- Imran, M. *et al.* (2019) 'Kaempferol: A key emphasis to its anticancer potential', *Molecules*, 24(12), pp. 1–16. doi: 10.3390/molecules24122277.
- Mardianingrum, R. *et al.* (2021) 'Studi In Silico Senyawa 1,4-Naphthalenedione-2-Ethyl-3-Hydroxy sebagai Antiinflamasi dan Antikanker Payudara', *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 17(1), p. 83. doi: 10.20961/alchemy.17.1.43979.83-95.
- Rastini, M. B. O. *et al.* (2019) 'Molecular Docking Aktivitas Antikanker Dari Kuersetin Terhadap Kanker

- Payudara Secara in Silico', *Jurnal Kimia*, p. 180. doi: 10.24843/jchem.2019.v13.i02.p09.
- Ruswanto, R., Mardianingrum, R., *et al.* (2018) 'In Silico Study Of The Active Compounds In Bitter Melon (*Momordica charantia* L) As Antidiabetic Medication', *Pharmaciana*, 8(2), p. 194. doi: 10.12928/pharmaciana.v8i2.8993.
- Ruswanto, R., Garna, I. M., *et al.* (2018) 'Kuersetin, Penghambat Uridin 5-Monofosfat Sintase Sebagai Kandidat Anti-kanker', *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 14(2), p. 236. doi: 10.20961/alchemy.14.2.14396.236-254.
- Ruswanto, R., Miftah, A. M., & Tjahjono, D. H. (2021). In silico study of 1-benzoyl-3-methylthiourea derivatives activity as epidermal growth factor receptor (EGFR) tyrosine kinase inhibitor candidates. *Chemical Data Collections*, 34, 100741.
- Ruswanto, R., Nofianti, T., Mardianingrum, R., & Kesuma, D. (2022). Design, molecular docking, and molecular dynamics of thiourea-iron (III) metal complexes as NUDT5 inhibitors for breast cancer treatment. *Heliyon*, 8(9).
- Saini, V. *et al.* (2015) 'Prospective Observation Study of Adverse Drug Reactions of Anticancer Drug Used in Cancer Treatment in a Tertiary Care Hospital'.
- Siswandono (2014) *Pengembangan Obat Baru, Edisi Pertama*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Siswandono (2016) *Kimia Medisinal I, Edisi Kedua*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Yudistira, A. (2017) 'Cytotoxic Activity Test of Sesewanua Leaves Extract (*Clerodendron squamatum* Vahl.) to Breast Cancer T47D Cell', *Pharmacon*, 6(2), pp. 45–51. Available at: <https://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/pharmacon/article/view/16420>.

