

# ***Study In Silico* Senyawa Apigenin Saledri (*Avium graveolens*) Sebagai Antikanker Terhadap Kanker Payudara**

## ***Computational***

Dikri Fadhlorrohman<sup>1\*</sup>, Ruswanto<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>*Departement Chemical, Faculty of Pharmacy , STIKes Bakti Tunas Husada, Cilolohan, Tasikmalaya, 46115, Jawa Barat.*

\**Corresponding author email: [dikrif66@gmail.com](mailto:dikrif66@gmail.com)*

**Received** 28-10-2021

**Accepted** 11-11-2021

**Available online** 15-12-2021

## **ABSTRAK**

Kanker payudara ini merupakan tumor ganas yang dapat menyerang jaringan payudara menyebabkan sel dan jaringan payudara berubah bentuk menjadi abnormal. Penyakit kanker merupakan salah satu penyakit degeneratif yang sangat membahayakan, salah satunya kanker payudara yang banyak menyerang wanita. Salah satu alternatif pengobatan kanker yaitu menggunakan tanaman herbal yaitu daun Saledri (*Avium graveolens*). Pada daun tanaman ini banyak terkandung senyawa Apigenin yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker salah satunya kanker payudara sehingga dapat menghambat proliferasi sel kanker yang diikuti dengan peningkatan spesies oksigen reaktif. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui mekanisme penghambatan ekspresi berlebih dari protein *HER – 2* oleh senyawa apigenin secara *in silico* dengan *molecular docking*. Kanker Payudara dapat diinisiasi salah satunya oleh ekspresi berlebih dari protein target *HER – 2* (PDB ID: 3PP0). *Molecular docking* secara *in silico* dilakukan dengan beberapa tahapan seperti validasi metode, optimasi struktur senyawa apigenin 3D, dan docking antara senyawa apigenin teroptimasi dengan protein *HER – 2* yang mengacu pada parameter energi ikatan. Diperoleh hasil docking yang berupa energi ikatan senyawa apigenin dengan protein *HER – 2* yaitu -8.05 kkal/mol, sedangkan energi ikatan antive ligand dengan protein *HER – 2* adalah -8.78 kkal/mol. Energi ikatan tersebut menunjukkan bahwa senyawa apigenin memiliki potensi sebagai antikanker payudara karena mampu memodulasi ekspresi berlebih dari protein *HER – 2*. Senyawa apigenin telah memenuhi kriteria dijadikannya sebagai calon obat. Ligan uji dari senyawa apigenin juga memiliki kemampuan sebagai penghambat protein dari reseptor *HER – 2* dengan adanya ikatan hidrogen dengan residu asam amino meskipun tidak sebaik *native ligand* – nya.

**Kata kunci:** *Apigenin, HER – 2 , Molecular Docking, Kanker Payudara.*

## ABSTRACT

Breast cancer is a malignant tumor that can invade breast tissue causing cells and tissues to change shape abnormally. Cancer is one of the most dangerous degenerative diseases, one of which is cancer that attacks women a lot. One alternative cancer treatment is using herbal plants, namely the leaves of Saledri (*Avium graveolens*). The leaves of this plant contain a lot of Apigenin compounds that can inhibit the growth of cancer cells, one of which is breast cancer so that it can trigger cancer cells followed by an increase in reactive oxygen species. The purpose of this study was to determine the mechanism of inhibition of excess excess of HER-2 protein by apigenin in silico with molecular docking. Breast cancer can be initiated either by overexpression of the HER-2 target protein (GDP ID: 3PP0). Molecular docking in silico was carried out in several steps, such as validation, optimization method of 3D apigenin compound structure, and docking between optimized apigenin compound and HER-2 protein which refers to energy parameters. The docking results obtained in the form of an energy of apigenin compound with HER-2 protein which is -8.05 kcal/mol, while the antive ligand energy with HER-2 protein is -8.78 kcal/mol. This energy indicates that apigenin compounds have potential as anticancer breast cancer because they are able to modulate the overexpression of the HER-2 protein compound. The drug has met the criteria to be used as a candidate. The test ligand of the apigenin compound also has the ability to inhibit the HER-2 receptor protein in the presence of hydrogen with amino acid residues, although it is not as good as the native ligand.

**Key words:** Apigenin, HER – 2 , Molecular Docking, Breast Cancer.

## Pendahuluan

Menurut Bray Freddie (2018) Kanker merupakan salah satu penyakit tidak menular dengan angka kematian yang semakin tinggi setiap tahunnya di hampir seluruh negara, di Indonesia, kanker merupakan penyebab kematian terbesar kedua setelah penyakit kardiovaskular. Kanker adalah sekelompok penyakit yang ditandai dengan pertumbuhan dan penyebaran sel-sel abnormal yang tidak terkendali (American Cancer Society, 2017). Ahli epidemiologi American Cancer Society (2017) mengatakan dari perkiraan sekitar 600.920 orang di Amerika meninggal karena kanker pada tahun 2017, penyebab utamanya adalah merokok, 20% dari semua kanker yang didiagnosis disebabkan oleh kombinasi berat badan, aktivitas fisik, konsumsi alkohol berlebih, dan gizi buruk.

Kanker payudara adalah kanker yang paling sering terjadi pada wanita dan menyerang sekitar satu dari sepuluh wanita di seluruh dunia. Kanker payudara

menyebabkan sel dan jaringan payudara berubah bentuk menjadi abnormal. Kanker payudara ini merupakan tumor ganas yang dapat menyerang jaringan payudara (American Cancer Society, 2017). Pertumbuhan sel kanker sangat tidak terkendali yang disebabkan karena kerusakan *deoxyribose nucleid acid* (DNA), sehingga menyebabkan mutasi gen vital yang mengontrol pembelahan sel (Rastini *et al.*, 2019).

Senyawa Apigenin merupakan golongan flavonoid yang sangat berlimpah di alam. Apigenin terdapat dalam jumlah sangat besar pada berbagai tumbuhan dan buah-buahan salah satunya yaitu saledri. Apigenin ini mempunyai sifat sebagai senyawa kemopreventif kanker melawan berbagai tipe kanker. Hasil dari berbagai studi menunjukkan bahwa apigenin dapat menghambat proliferasi sel kanker yang diikuti dengan peningkatan spesies oksigen reaktif (ROS) (Wibawa *et al.*, 2020) .

Saledri diduga memiliki afektivitas sebagai antikanker dengan menghambat pertumbuhan sejumlah sel kanker termasuk sel limfoblastik leukemia CEM-C7H2. Di Indonesia banyak ditanami seledri yang digunakan oleh masyarakat sebagai bahan pelengkap sayuran. Tanaman ini juga banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat hipertensi. Pada penelitian sebelumnya, saledri ini memiliki kandungan fitokimia yaitu mengandung fenol, furocoumarins, flavonoid (apigenin, apiin), tannin (Wibawa et al., 2020).

Pada penelitian ini dilakukan preparasi apigenin dengan memaparkan hasil analisis kandungan senyawa apigenin saledri dengan menggunakan metode docking (*in silico*) secara penambatan molekul dan dinamika molekular terhadap reseptor *HER-2*. Oleh karena itu perlu dilakukan prediksi aktivitas melalui interaksi suatu protein tertentu terhadap ligan dengan menggunakan metode *molecular docking* terhadap protein tersebut.

### Metode Penelitian

#### Alat

Sebuah laptop dengan spesifikasi *Windows 11 64-bit Processor Intel(R) Core(TM) i5 – 10210u 10th CPU@ 1.60GHz RAM 8GB* yang dilengkapi program perangkat lunak *Molegro Molecular Viewer, BIOVIA Discovery Studio, Marvin Skech, Autodock Tools 1.5.6* dan *s pcksm* dan *Lipinski's rule of five*.

#### Bahan

Struktur *Smiles* senyawa apigenin di copy dari situs *PubChem* <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> lalu dipaste ke software *ChemDraw* dalam bentuk 2D dan disimpan. Struktur protein target *HER-2* (PDB ID: 3PP0) diunduh di *RCSB Protein Data Bank* pada website : <https://rscb.org>.

### Prosedur Penelitian

#### Preparasi Struktur 3D Protein *HER – 2*

Protein dipreparasi menggunakan *software AutoDock* dengan dihilangkan airnya dan ditambahkan atom hidrogen polar serta. Lalu menggunakan *software Molegro Molecular Viewer* dengan memisahkan antara *native ligand* dengan protein *HER – 2* dan dihilangkan kofaktor jika ada.

#### Preparasi Struktur 2D Senyawa Apigenin

Struktur 2D senyawa apigenin dioptimasi dan diprotonisasi menggunakan *software MarvinSkech*.

#### Validasi Metode *Docking*

*Software Autodock Tools* digunakan untuk validasi metode *molecular docking* dengan *redocking native ligand* dan protein dari reseptor *HER – 2* yang sebelumnya dihilangkan *native ligand* – nya. Output dari validasi metode *molecular docking* ini adalah nilai *Root Mean Square Deviation (RMSD)* dengan nilai yang dapat diterima yaitu  $< 2 \text{ \AA}$  (Ruswanto, 2015; Ruswanto et. al., 2018; Ruswanto et. al., 2022; Ruswanto et. at, 20210).

#### *DrugScan*

Senyawa apigenin di uji *drugscan* – nya menggunakan *Lipinski's rule of five* guna mengetahui apakah senyawa apigenin tersebut layak atau tidaknya dijadikan calon obat, dengan parameter dari *Lipinski's rule of five* sebagai berikut:

- Berat molekul  $< 500 \text{ g/mol}$
- High lipopilitas  $\text{Log p} < 5$
- Pendonor ikatan hidrogen  $< 5$
- Akseptor ikatan hidrogen  $< 10$
- Molar reactivity diantara rentang 40 – 130

#### *Pcksm*

Senyawa apigenin di uji Absorpsi, Distribusi, Metabolisme dan

Ekskresi nya (*ADME*) menggunakan program yang dapat diakses di <http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsmprediction>.

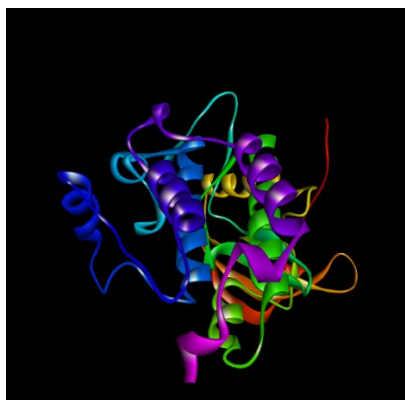
### Penambatan Ligan Uji Apigenin terhadap Protein Reseptor HER – 2

Senyawa apigenin yang telah dioptimasi selanjutnya di tambatkan dengan protein HER – 2 yang sudah

### Hasil dan Pembahasan

#### Preparasi Struktur 3D Protein HER – 2

Protein dari HER – 2 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



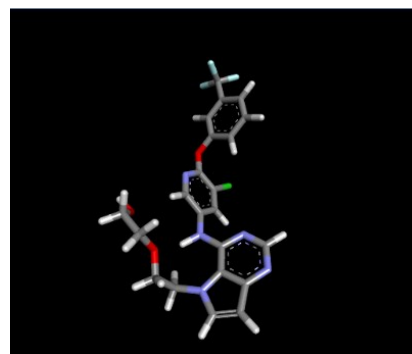
**Gambar 1.** Visualisasi 3D protein sesudah dipisah.

#### Preparasi Struktur 2D Senyawa Apigenin

Struktur 2D apigenin dari *ChemDraw* yang diambil dari *Pubchem* yang berupa struktur *SMILES* dioptimasi dan diprotonisasi dengan menggunakan software *MarvinSkech* dengan diprotonisasi pada pH 7,4 dengan metode *Major Microspecies* agar sesuai dengan pH darah. Setelah itu struktur dari apigenin dilakukan *Conformational search* agar didapatkan struktur dari

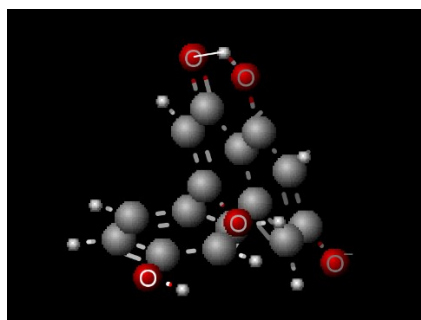
dipisahkan antara *native ligand* dengan *ligand* alaminya dengan menggunakan *AutoDock Tools* dengan prosedur yang sama pada saat validasi metode protein HER – 2. Output yang didapat dari hasil penambatan yaitu adanya konformasi ikatan senyawa antara protein HER – 2 dan ligan uji dengan nilai energi ikatan serta ikatan hidrogen.

*native ligand* – nya bertujuan agar menyediakan tempat untuk ligan uji yaitu apigenin untuk dapat berikatan dengan protein HER – 2. Rantai protein yang diambil dalam pengujian ini yaitu rantai A yang berikatan dengan *native ligand* 03Q (*2-{2-[4-({5-chloro-6-[3-(trifluoromethyl) phenoxy] pyridin-3-yl}amino)-5H-pyrrolo[3,2-d] pyrimidin-5-yl]ethoxy} ethanol*) yang dapat berfungsi sebagai inhibitor HER – 2.



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

apigenin yang paling stabil, sesuai dan cocok dengan reseptor atau protein dari HER – 2 (Ruswanto, Garna, et al., 2018). Metode *conformers* digunakan untuk mendapatkan konformasi struktur ligan dari senyawa apigenin, didapatkan sekitar 10 konformasi ligan lalu diambil konformasi ligan yang memiliki energi paling kecil yaitu 25.74 kcal/mol struktur dapat dilihat pada gambar 3.



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

### Validasi Metode Docking

Pada validasi metode ini melibatkan *redocking* antara *native ligand* dengan protein dari reseptor HER – 2, 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 0.87 Å yang berarti bahwa metode *molecular docking* dapat diterima atau tervalidasi. Visualisasi 3D dari validasi metode dapat dilihat dari gambar 4.



**Gambar 4.** Visualisasi 3D hasil validasi metode docking

### DrugScan

*DrugScan* dilakukan menggunakan *Lipinski's rule of five* yang diakses melalui website : <http://www.scfbio-iitd.res.in>. Hasil dari uji tersebut senyawa apigenin memenuhi semua parameter yang digunakan untuk menjadi calon obat, dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil *DrugScan Lipinski's* senyawa apigenin

<i>Compound</i>	<i>Molecular Mass</i>	<i>High Lipophilicity</i>	<i>Hydrogen Bond Donors</i>	<i>Hydrogen Bond Acceptor</i>	<i>Molar Refractivity</i>
	<500 g/mol	Log P <5	<5	<10	40 – 130
Apigenin	269.000 g/mol	1	2	5	69.490

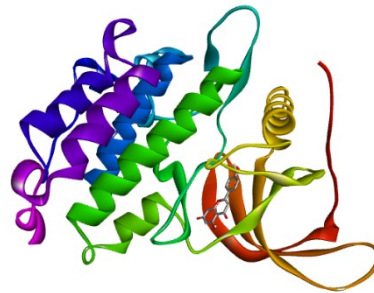
### Pcksm

Hasil uji ADME dari senyawa Apigenin telah memenuhi parameter mulai dari permeabilitas yang menunjukkan bahwa kekuatan penetrasi senyawa dalam menembus dinding

lemak bagus serta nilai absorpsi di usus menunjukkan bahwa senyawa apigenin bagus dalam penyerapan dalam usus. Hasil dari *Pcksm* dapat dilihat dari tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil *Pcksm* senyawa Apigenin

<i>Ligands</i>	<i>CaCo<sub>2</sub> Cells Permeability</i>	<i>HIA (Human Intestinal Absorption)</i>
Apigenin	1.007 Log Papp in 10 <sup>-6</sup> cm/s	93.25 %



**Gambar 5.** Visualisasi 3D hasil penambatan ligan uji dan protein HER – 2

### Penambatan Ligan Uji Apigenin Terhadap Protein Reseptor HER – 2

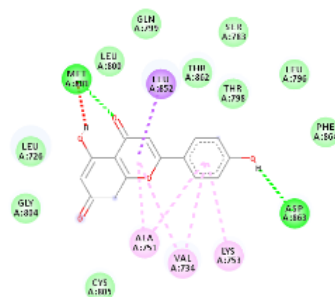
Ligan uji yaitu senyawa Apigenin yang telah dioptimasi dan diprotonisasi selanjutnya di tambatkan dengan protein dari reseptor HER – 2 yang telah dipreparasi menggunakan metode yang sama seperti validasi metode *docking* reseptor, hanya saja titik koordinat yang dipakai pada saat menjalankan grid box disamakan dengan hasil validasi metode *docking* reseptor yang telah tervalidasi yaitu ( $X = 16.151$ ,  $Y = 17.394$  dan  $Z = 26.218$ ). Hasil visualisasi dari penambatan ligan uji dan protein dapat dilihat pada gambar 5.

Semakin kecil nilai  $\Delta G$  maka semakin stabil dan semakin tinggi nilai afinitasnya (Ruswanto, Mardianingrum, et al., 2018). Hasil *binding energy* yang diperoleh dari penambatan antara senyawa apigenin terhadap protein HER – 2 dapat dilihat pada tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil *Docking Native Ligand* pada Protein HER – 2 dengan Ligan Uji Apigenin

<i>Protein Target</i>	<i>Ligand</i>	<i>Binding Energy (<math>\Delta G</math>)</i>	<i>Hydrogen Bond</i>
HER – 2	Native Ligand	-8.78 kcal/mol	MET A:801 ASP A:863
	Apigenin	-8.05 kcal/mol	MET A:801 ASP A:863

Hasil *binding energy* ( $\Delta G$ ) dari senyawa apigenin dan native ligan sama – sama bernilai negatif akan tetapi nilai dari *binding energy* ligan uji lebih besar (-8.05 kcal/mol) dibandingkan dengan *binding energy* dari *navite ligand* yang lebih kecil (-8.78 kcal/mol) hal ini menunjukkan bahwa ikatan dari ligan uji lebih lemah dibandingkan dengan ikatan *native ligand* terhadap protein HER – 2, meskipun ikatan dari ligan uji lemah akan tetapi ligan uji dapat berikatan dengan reseptor dari HER – 2.



**Gambar 6.** Visualisasi interaksi 2D antara protein dengan ligan uji

Terlihat pada gambar 6 ligan uji apigenin memiliki ikatan hidrogen terhadap residu asam amino dari protein HER – 2 yaitu (ASP A: 863) dan (MET A: 801) selain ikatan hydrogen terdapat juga ikatan hidropobik.

### Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan diatas dapat ditarik kesimpulan yaitu senyawa apigenin telah memenuhi kriteria untuk dijadikan sebagai calon obat mulai dari *DrugScan Lipinski rule of five* dan *Pcksm*. Ligan uji dari senyawa apigenin juga memiliki kemampuan sebagai penghambat protein dari reseptor HER – 2 dengan adanya ikatan hidrogen terhadap residu asam amino meskipun tidak sebaik *native ligand* – nya.

### Daftar Pustaka

- American Cancer Society. (2017). Cancer Facts & Figures. In *World Health Organization - Technical Report Series*.
- Rastini, M. B. O., Giantari, N. K. M., Adnyani, K. D., & Laksmiani, N. P. L. (2019). Molecular Docking Aktivitas Antikanker Dari Kuersetin Terhadap Kanker Payudara Secara in Silico. *Jurnal Kimia*, 180. <https://doi.org/10.24843/jchem.2019.v13.i02.p09>
- Ruswanto, R., Garna, I. M., Tuslinah, L., Mardianingrum, R., Lestari, T., & Nofianti, T. (2018). Kuersetin, Penghambat Uridin 5-Monofosfat Sintase Sebagai Kandidat Antikanker. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 14(2), 236. <https://doi.org/10.20961/alchemy.14.2.14396.236-254>
- Ruswanto, R., Mardianingrum, R., Lestari, T., Nofianti, T., Tuslinah, L., & Nurmalik, D. (2018). In Silico Study Of The Active Compounds In Bitter Melon (*Momordica charantia* L) As Antidiabetic Medication. *Pharmaciana*, 8(2), 194. <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v8i2.8993>
- Ruswanto, R. (2015). Desain dan pemodelan molekul turunan 1, 3-dibenzoyl tiourea sebagai inhibitor chk1 secara in silico. *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-ilmu Keperawatan, Analis Kesehatan dan Farmasi*, 9(1), 14.
- Ruswanto, R., Mardianingrum, R., Lestari, T., Nofianti, T., & Siswandono, S. (2018). 1-(4-Hexylbenzoyl)-3-methylthiourea. *Molbank*, 2018(3), M1005.
- 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).
- 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.
- Wibawa, T. H. A., Eva Maria Widyasari, I., Suherman, A., Sriyani, M. E., Kurniawan, A., & Ramdhani, D. (2020). *Preparasi Senyawa Anti Kanker Apigenin Bertanda Radioiodium-131 untuk Studi Bioaktivitas*. 21(1), 49–60.