

Prediksi In Silico Aktivitas Antikanker Payudara dari Metabolit Sekunder Tanaman Babandotan (*Ageratum conyzoides* L.)

Saeful Amin*, Ade Triana Abidin, Mochamad Fathurohman
Program Studi Farmasi, Universitas Bakti Tunas Husada, Tasikmalaya, Indonesia

*Corresponding author: saefulamin@universitas-bth.ac.id

Abstract

Background: Cancer is a disease in which cells can grow and develop uncontrollably in specific areas of the body, and are malignant, capable of attacking and destroying surrounding tissues. Breast cancer in women has surpassed lung cancer as the most commonly diagnosed cancer. Receptors involved in breast cancer treatment include estrogen and progesterone receptors. **Objective:** This study aims to explore the potential of compounds in the *Ageratum conyzoides* L. as candidates for new anti-cancer drugs through molecular docking on estrogen and progesterone receptors. **Methods:** Molecular docking methods were used to analyze the interactions of 33 compounds from *Ageratum conyzoides* L. with estrogen (PDB: 5W9C) and progesterone (PDB: 1ZUC) receptors, with cyclophosphamide as a reference drug. **Conclusion:** The results indicate that the compound kaempferol has the lowest binding energy on receptor 1ZUC, while stigmasterol has the lowest binding energy on receptor 5W9C compared to the reference and natural ligands. Molecular dynamics simulations confirmed the stability of these compounds over 100 ns. These findings suggest that compounds in the babandotan plant have promising potential as anti-breast cancer agents for further development in breast cancer treatment.

Keywords: *Ageratum conyzoides* L, breast cancer, in silico study.

Abstrak

Pendahuluan: Kanker merupakan penyakit dimana sel-sel dapat tumbuh dan berkembang secara tidak terkendali di area tubuh tertentu serta bersifat ganas dan dapat menyerang serta menghancurkan jaringan di sekitarnya. Kanker payudara pada wanita telah melampaui kanker paru-paru sebagai kanker terbanyak. Reseptor pada antikanker payudara diantaranya reseptor estrogen dan progesterone. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk menemukan potensi senyawa dalam tanaman babandotan (*Argentum conyzoides* L.) sebagai kandidat obat baru anti kanker melalui penambatan molekul pada reseptor estrogen dan progesterone. **Metode:** Metode docking molekuler digunakan untuk menganalisis interaksi antara 33 senyawa tanaman babandotan pada reseptor estrogen (PDB: 5W9C) dan progesterone (PDB: 1ZUC) dengan cyclophosphamide sebagai obat pembanding. **Kesimpulan:** Hasil menunjukkan senyawa kaempferol memiliki energi ikatan paling rendah pada reseptor 1ZUC dan senyawa stigmasterol memiliki energi ikatan terendah pada reseptor 5W9C dibandingkan dengan pembanding dan ligan alami. Simulasi molekuler dinamik mengkonfirmasi stabilitas senyawa tersebut selama 100 ns. Temuan ini menunjukkan potensi senyawa dalam tanaman babandotan sebagai antikanker payudara yang menjanjikan untuk pengembangan lebih lanjut dalam pengobatan kanker payudara.

Kata kunci: *Ageratum conyzoides* L, kanker payudara, studi in silico.

PENDAHULUAN

Kanker adalah penyakit serius yang ditandai dengan pertumbuhan sel tidak terkendali di suatu bagian tubuh yang bersifat ganas dan dapat menyerang serta menghancurkan

jaringan dan organ sehat di sekitarnya (Islam et al., 2020). Menurut perkiraan dari WHO tahun 2019 bahwa kanker merupakan penyebab kematian terbanyak lansia bawah 70 tahun, menempati peringkat pertama di 112 dari 183

negara. Kanker payudara pada wanita telah melampaui kanker paru-paru sebagai kanker terbanyak terdiagnosis kanker dengan perkiraan 2,3 juta kasus baru yang merepresentasikan 11,7% dari seluruh kasus kanker. Selain itu pada tahun 2020 terdapat 9,9 juta kasus kematian karena kanker dan 684.996 kasus kematian karena kanker payudara (Sung et al., 2021).

Pada terapi kanker ada berbagai pilihan pengobatan terbaru pada dasarnya rumit dan memiliki banyak efek samping. Oleh karena itu, kebutuhan untuk mengembangkan obat antikanker yang efektif dengan efek samping yang lebih sedikit menyebabkan meningkatnya kebutuhan akan penelitian di bidang kimia produk alami, desain obat, dan pengembangan obat (Islam et al., 2020).

Indonesia, sebagai negara kepulauan di kawasan tropis Asia Tenggara mempunyai beragam flora dan fauna yang melimpah. Masyarakat secara luas memanfaatkan tanaman babandotan (*Ageratum conyzoides* L) untuk mengobati berbagai penyakit. Tanaman ini dikenal sebagai obat herbal yang telah digunakan di Indonesia dan diketahui memiliki manfaat farmakologis seperti aktivitas antioksidan, antitumor, dan antikanker (Kotta et al., 2020).

mengungkapkan bahwa tanaman ini merupakan sumber yang kaya metabolit sekunder seperti flavonoid, terpenoid, dan alkaloid, yang telah terbukti memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker (Adelya et al., 2022). Berdasarkan kajian literatur penelitian mengenai potensi senyawa dalam tanaman babandotan sebagai antikanker payudara secara *in silico* merupakan langkah yang relevan dan perlu dilakukan untuk pengembangan ilmu pengetahuan di bidang farmasi.

BAHAN DAN METODE

Bahan

33 senyawa yang terkandung dalam tanaman babandotan, obat antikanker payudara cyclophosphamide. Reseptor Estrogen, Her2, dan Progesteron yang diunduh dari Protein

Data Bank dengan kode PDB (5W9C, 7PCD, dan 1ZUC).

Alat

Perangkat keras berupa Laptop dengan spesifikasi 12th Gen Intel(R) Core (TM) i5-12500H CPU @ 3.10 GHz, memori (RAM) 8,00 GB, tipe system 64-bit *Operating system*. Perangkat lunak berupa AutoDockTools-versi 1.5.7, Discovery Studio Visualizer 2021 Client dari Biovia versi 21.1.0.20298, Molegro Molecular Viewer (MMV) versi 2019.7, MarvinSketch dari Chemaxon versi 5.2.5.1, dan Desmond.

Metode

Analisis Reseptor

Pemilihan reseptor dengan cara melihat resolusi reseptor $< 2 \text{ \AA}$ pada Protein Data Bank. Serta dilakukan analisis Plot Ramachandran dengan melihat parameter disallowed regions yang nilainya $< 0,8\%$ (Ruswanto et al., 2021).

Preparasi Reseptor

Preparasi reseptor dengan cara menghilangkan molekul air dan konformer dilanjutkan dengan pemisahan reseptor dengan ligan alaminya menggunakan aplikasi Molegro Molecular View, kemudian dilakukan penyiapan reseptor dan ligannya dengan menambahkan hidrogen serta muatan menggunakan aplikasi Discovery Studio 2021 Client dan disimpan dengan format .pdb (Mardianingrum, Endah, et al., 2021).

Preparasi Ligan

Senyawa uji yang menjadi ligan di download melalui situs web PubChem dan disimpan dalam format 2D .sdf, lalu dikonversi menjadi format mol2. setelah itu, ligan dibersihkan dalam format 2D, diprotonasi pada pH darah yaitu 7,4 dan disimpan dengan format mrv. Selanjutnya, energi ligand diminimalisasi dilakukan konformasi ligan dan disimpan dengan format .pdb. Penyiapan ligand menggunakan software MarvinSketch versi 22.19 (Ruswanto et al., 2021).

Validasi Metode

Validasi metode ini dengan menambatkan ulang ligand alami dengan sisi aktif reseptor yang sebelumnya telah dipisahkan. Umumnya,

nilai RMSD ≤ 2 Å dianggap sebagai ambang batas untuk penambatan yang valid. Aplikasi yang akan digunakan adalah YASARA (Ruswanto et al., 2022).

Docking Senyawa

Docking Senyawa Kompleks terhadap Reseptor Target Ligan yang telah dipreparasi dilakukan optimasi dan format file dikonversi dari mol2 ke format file PDBQT dengan menggunakan *AutodockTools-1.5.6*. Analisis tiap ligan diatur dalam *default* docking dan dijalankan dengan algoritma Lamarckian GA (Ruswanto et al., 2022).

Visualisasi Hasil Docking

Interaksi ligan-protein dapat divisualisasikan dalam format 2D dan 3D untuk mendapatkan pemahaman yang lebih baik mengenai mekanisme pengikatan visualisasi dilakukan menggunakan perangkat lunak Discovery Studio (Ruswanto et al., 2022).

Skринing Kemiripan Obat (Drug Scan)

Drug scan dilakukan terhadap senyawa terbaik yang telah melalui tahap penambatan molekul dan dinamika molekul. Analisis ini dilakukan untuk memastikan bahwa senyawa kimia dengan aktivitas biologis yang menjanjikan juga memiliki sifat fisikokimia yang sesuai dengan aturan Lipinski (*Lipinski's Rule of Five*), (Ruswanto, Richa Mardianingrum Siswandono, Dini Kesuma, 2020)

Prediksi Profil Farmakokinetik dan Toksisitas

Untuk memperkirakan bagaimana suatu senyawa akan diserap, didistribusikan, dimetabolisme, dan diekskresikan dalam tubuh, kita dapat memanfaatkan alat prediksi berbasis web pkCSM.

Molecular Dynamic

Molecular dynamic dilakukan pada ketiga reseptor yang memenuhi validasi docking pada senyawa yang terdapat pada tanaman babandotan terbaik dari hasil docking menggunakan program *Desmond software for academic* (Kumar et al., 2021).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Reseptor

Kualitas protein akan lebih baik jika nilai resolusi kristal proteinnya semakin kecil Nilai

resolusi reseptor yang lebih rendah dari 3 Å dapat mempengaruhi stabilitas reseptor selama proses molecular docking (Kalontong et al., 2022).

Plot Ramachandran digunakan untuk menilai kualitas struktur protein. Struktur protein dianggap berkualitas baik jika residu-residu yang ditampilkan berada di luar area *disallowed regions* pada kuadran IV adalah kurang dari 0,8%. Struktur protein dianggap baik jika lebih dari 90% residu asam amino non-glisin berada di kuadran I, yaitu *most favored region* (Aziz et al., 2022).

Berdasarkan visualisasi pada Gambar 1, plot Ramachandran menunjukkan bahwa struktur protein 5W9C, 7PCD, dan 1ZUC memiliki distribusi sudut dihedral phi dan psi yang sangat menguntungkan. Persentase residu yang berada di wilayah *most favored regions* sangat tinggi, yaitu 95.6% untuk 5W9C, 93.6% untuk 7PCD, dan 93.0% untuk 1ZUC. Selain itu, tidak ada atau hanya sedikit residu yang berada di wilayah *disallowed regions*, yang mengindikasikan bahwa model struktur protein ini memiliki kualitas yang sangat baik dan konformasi yang stabil.

Preparasi Reseptor

Struktur protein reseptor target diakses dari PDB untuk analisis. Pada proses preparasi reseptor diawali dengan pemisahan ligan, diikuti oleh minimisasi molekul air dan penambahan atom hidrogen untuk menghasilkan struktur protein yang siap untuk docking. Preparasi ini dilakukan menggunakan aplikasi MMV dan Discovery Studio. Untuk meningkatkan efisiensi proses validasi docking, molekul air dan residunya yang tidak terlibat langsung dihilangkan dari sistem. Selanjutnya, atom hidrogen ditambahkan pada makromolekul untuk memfokuskan pada analisis interaksi non-kovalen, khususnya ikatan hidrogen, antara ligan dan sisi aktif protein. Setelah proses penambahan hidrogen dilakukan pemisahan antara protein dengan ligan yang sudah di preparasi sebelumnya simpan file dalam format .mol2 (Ruswanto et al., 2021).

Preparasi Ligand

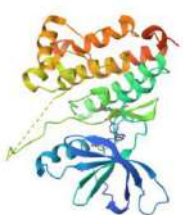
Preparasi ligand sebanyak 33 senyawa dari tanaman babandotan, obat pembanding dan Native ligand reseptor kemudian di preparasi menggunakan software MarvinSketch. Pada aplikasi MarvinSketch dibersihkan struktur 2D nya dan protonasi ligand uji pada pH 7,4 sesuai pH darah manusia simpan file dalam format .mrv (Hanif et al., 2020).

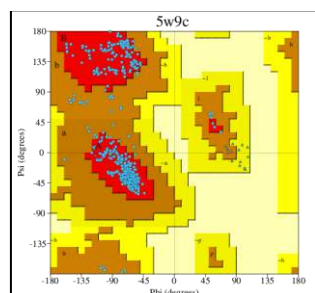
Validasi Metode Docking

Validasi metode docking dilakukan untuk memverifikasi kesesuaian reseptor target dalam docking, dengan cara me-redocking ligand alami dan proteinnya. Proses validasi metode docking dilakukan ligand alami dari

setiap kode reseptor dan mendapatkan skor docking terbaik. Setelah itu hasil docking dapat dilihat dengan cara menjalankan software YASARA untuk menggabungkan ligan dari file ref.mol2 untuk setiap protein dengan satu konformasi hasil dari proses docking ligand alami untuk melihat nilai Root Mean Square Deviation (RMSD) dari setiap kode reseptornya Validitas metode docking ditentukan oleh nilai RMSD yang $\leq 2 \text{ \AA}$ (Ruswanto et al., 2022). Informasi lengkap mengenai validasi data dapat ditemukan di Tabel 2

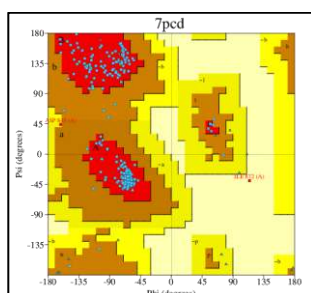
Tabel 1 Analisis Reseptor

Kode Reseptor PDB (Protein Data Bank)	Ligand Alami	Gambar Struktur 3D
5W9C Resolusi 1,80 Å (ESTROGEN RECEPTOR ALPHA LIGAND BINDING DOMAIN C381S, C417S, C530S IN COMPLEX WITH 4-HYDROXYTAMOXIFEN) Released: 2018	OHT 4-HYDROXYTAMOXIFEN	
7PCD Resolusi 1,77 Å HER2 IN COMPLEX WITH A COVALENT INHIBITOR Released: 2022	70I 1-[4-[4-[[3,5-bis(chloranyl)-4- ([1,2,4]triazolo[1,5-a]pyridin-7- yloxy)phenyl]amino]pyrimido[5,4- d]pyrimidin-6-yl]piperazin-1-yl]-4- (3-fluoranylazetidin-1-yl)butan-1- one	
1ZUC Resolusi 2,00 Å (PROGESTERONE RECEPTOR LIGAND BINDING DOMAIN IN COMPLEX WITH THE NONSTEROIDAL AGONIST TANAPROGET) Released: 2005	T98 5-(4,4-DIMETHYL-2-THIOXO- 1,4-DIHYDRO-2H-3,1- BENZOXAZIN-6-YL)-1- METHYL-1H-PYRROLE-2- CARBONITRILE	



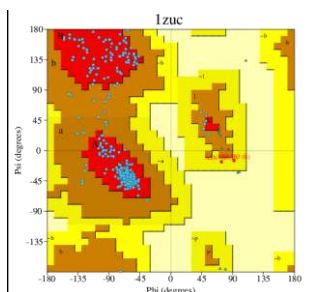
	No. of residues	%-tage
Most favoured regions [A,B,L]	787	95.6%
Additional allowed regions [a,b,l,p]	36	4.4%
Generously allowed regions [~a,~b,~l,~p]	0	0.0%
Disallowed regions [XX]	0	0.0%
Non-glycine and non-proline residues	823	100.0%
End-residues (excl. Gly and Pro)	29	
Glycine residues	39	
Proline residues	31	
Total number of residues	922	

(a)



	No. of residues	%-tage
Most favoured regions [A,B,L]	221	93.6%
Additional allowed regions [a,b,l,p]	13	5.5%
Generously allowed regions [~a,~b,~l,~p]	1	0.4%
Disallowed regions [XX]	1	0.4%*
Non-glycine and non-proline residues	236	100.0%
End-residues (excl. Gly and Pro)	4	
Glycine residues	17	
Proline residues	15	
Total number of residues	272	

(b)



	No. of residues	%-tage
Most favoured regions [A,B,L]	424	93.0%
Additional allowed regions [a,b,l,p]	30	6.6%
Generously allowed regions [~a,~b,~l,~p]	2	0.4%
Disallowed regions [XX]	0	0.0%
Non-glycine and non-proline residues	456	100.0%
End-residues (excl. Gly and Pro)	4	
Glycine residues	20	
Proline residues	22	
Total number of residues	502	

(c)

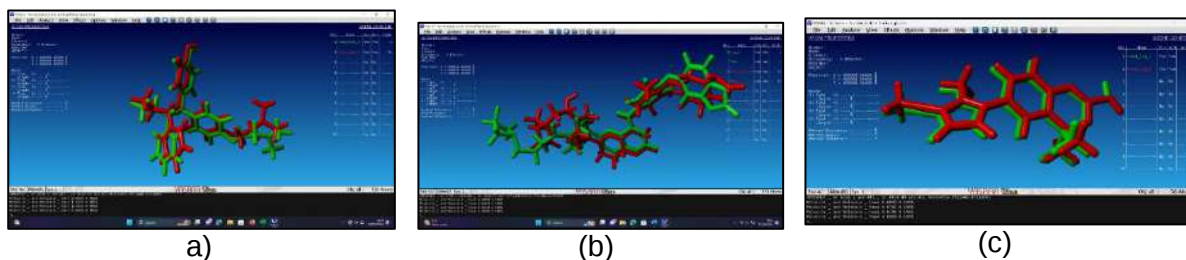
Gambar 1 Statistik Plot Ramachandran Kode Reseptor (a) 5W9C, (b) 7PCD, dan (c) 1ZUC

Tabel 2 Hasil validasi metode docking

No	Kode Reseptor (PDB ID)	RMSD (Å)
1	5W9C	1,9243
2	7PCD	5,7884
3	1ZUC	0,6746

Berdasarkan **Tabel 2** dari ketiga hasil validasi *docking* didapatkan pada protein 5W9C mempunyai nilai RMSD 1,9243 Å, pada protein 7PCD memiliki nilai RMSD 5,7884 Å, dan pada protein 1ZUC memiliki nilai RMSD 0,6746 Å. Dari ketiga struktur reseptor, hanya reseptor

5W9C dan 1ZUC yang memenuhi kriteria validasi struktural dengan nilai RMSD kurang dari 2 Å. Sedangkan pada reseptor 7PCD tidak memenuhi karena memiliki nilai RMSD > 2 Å. Visualisasi hasil validasi metode docking disajikan pada **Gambar 2**.



Gambar 2 Visualisasi validasi metode docking (a) 5W9C, (b) 7PCD, dan (c) 1ZUC.

Docking Senyawa

Docking ligand uji dilakukan menggunakan software PyRx dengan menjalankan AutodockTools adalah untuk memvalidasi metode docking yang digunakan dengan membandingkan nilai RMSD hasil docking dengan struktur kristal, kita dapat menilai akurasi prediksi posisi ikatan ligan. Jika nilai $RMSD \leq 2\text{\AA}$, maka hasil docking dianggap sudah cukup baik dan mirip dengan struktur kristalografinya. Parameter yang

diperhitungkan saat menghitung hasil docking diantaranya *binding affinity*, konstanta inhibisi, interaksi residu dan jumlah ikatan hidrogen. Afinitas pengikatan merupakan ukuran kekuatan interaksi antara protein dan ligan. Nilai ΔG yang negatif menunjukkan interaksi yang menguntungkan secara energetik. Semakin negatif nilai ΔG , semakin tinggi afinitas pengikatan, yang berarti ligan tersebut lebih mudah dan stabil berikatan dengan protein target (Ruswanto et al., 2022).

Tabel 3 Hasil Analisis Docking

No	Hasil Docking	Binding Affinity (kcal/mol)	
		Reseptor 1ZUC	Reseptor 5W9C
1	Ligan Alami	-8,38	-11,07
2	Cyclophosphamide	-4,58	-4,51
Senyawa Uji Pada Tanaman Babandotan (<i>Ageratum Conyzoides</i> L)			
1	Kaempferol	-8,44*	-7,14
2	Sesamin	-8,19	-8,45
3	Stigmasterol	-8,36	-11,32*
4	Quercetin	-8,27	-7,33
5	Beta-Sitosterol	-8,70	-11,00

* : Nilai *docking* ligand uji yang lebih kecil dari daripada *docking* ligand alami

Berdasarkan analisis docking pada reseptor protein 1ZUC dan 5W9C, dapat disimpulkan bahwa pada **Tabel 3**, senyawa stigmasterol dari tanaman babandotan menunjukkan potensi pengikatan yang paling kuat dibandingkan dengan senyawa kaempferol dan obat pembanding cyclophosphamide. Senyawa stigmasterol memiliki nilai binding affinity - 11,32 kcal/mol pada reseptor 5W9C, sementara kaempferol memiliki nilai -8,44

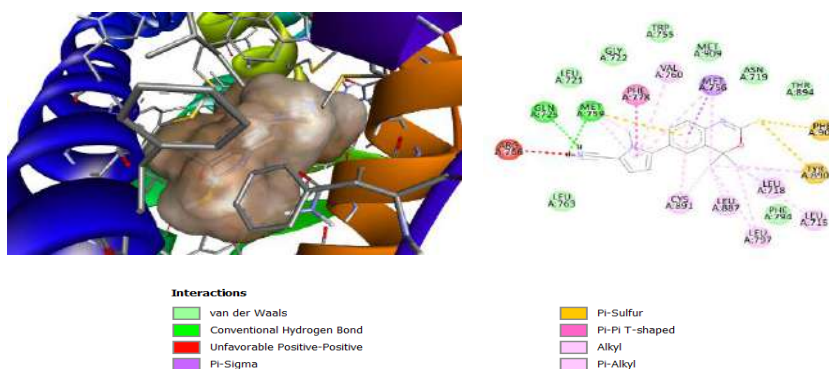
kcal/mol pada reseptor 1ZUC. Kedua senyawa tersebut memiliki nilai binding affinity lebih kecil daripada ligand alami.

Visualisasi Hasil Docking

Visualisasi menggunakan Discovery Studio, dapat diidentifikasi interaksi non-kovalen yang spesifik, seperti ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik, dan pengikatan pada protein. Interaksi hidrogen, yang terbentuk akibat tarikan elektrostatis antara atom hidrogen yang

bermuatan parsial positif dan atom elektronegatif, serta interaksi hidrofobik, yang didorong oleh kecenderungan molekul

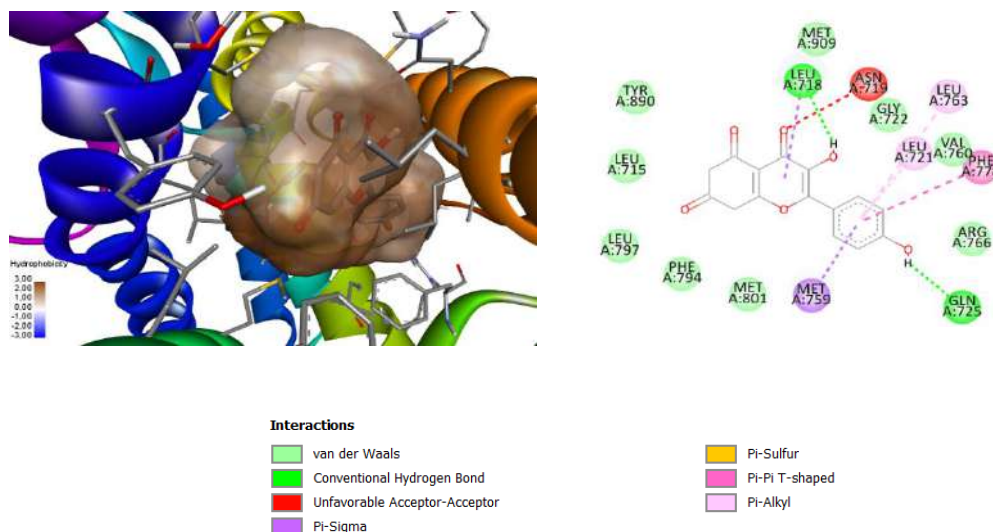
nonpolar untuk menghindari lingkungan polar, berperan signifikan dalam stabilitas kompleks protein-ligan (Sari *et al.*, 2020).



Gambar 3 Visualisasi interaksi native ligan pada reseptor progesterone 1ZUC

Berdasarkan **Gambar 3** mempunyai interaksi ikatan hidrogen pada residu asam amino GLN A:725, MET A:759, dan ikatan hidrofobik yaitu interaksi van der wall PHE A:794, THR A:894, ASN A:719, MET A:909, TRP A:755, GLY A:722, LEU A:721, LEU A:763, interaksi alkyl

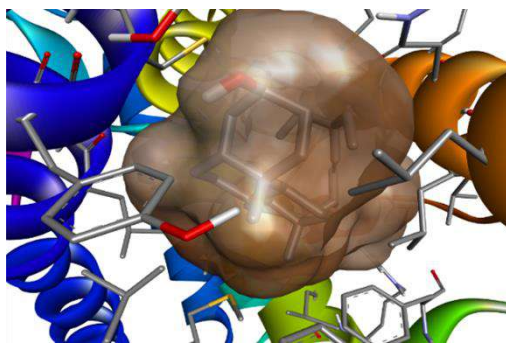
dan pi-alkyl VAL A:760, CYS A:891, LEU A:887, LEU A:718, LEU A:797, LEU A:715, interaksi pi-sulfur PHE A:905, TYR A:890, interaksi pi-pi T-shaped PHE A:778, interaksi pi-sigma MET A:756, dan interaksi unfavorable positive-positive ARG A:766.



Gambar 4 Visualisasi interaksi senyawa kaempferol pada reseptor progesterone 1ZUC

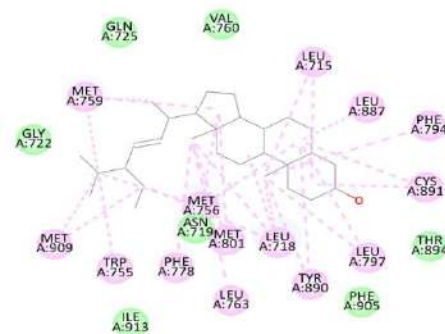
Berdasarkan **Gambar 4** menunjukkan interaksi pada sisi aktifnya, yaitu ikatan hidrogen pada residu asam amino LEU A:718 dan GLN:725. Selain itu, terdapat juga beberapa ikatan hidrofobik seperti interaksi van der Waals, interaksi penerima yang tidak menguntungkan,

pi-sigma, pi-sulfur, pi-pi berbentuk T, dan pi alkyl pada residu ASN A:719, MET A:759, PHE A:778, LEU A:763, LEU A:721, TYR A:890, LEU A:715, LEU A:797, PHE A:794, MET A:801, MET A:909, GLY A:722, VAL A:760, dan ARG A:766.



Interactions

- van der Waals
- Alkyl

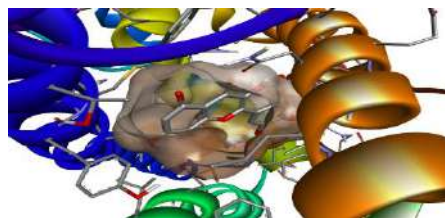


- Pi-Alkyl

Gambar 5 Visualisasi interaksi senyawa stigmasterol pada reseptor progesterone 1ZUC

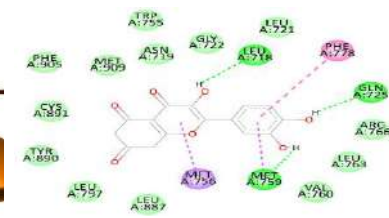
Berdasarkan **Gambar 5** mempunyai interaksi pada sisi aktifnya diantaranya ikatan hidrofobik yaitu interaksi van der Waals, alkyl dan pi-alkyl diantaranya ILE A:913, ASN A:719, PHE A:905, THR A:894, VAL A:760, GLN A:725, GLY

A:722, MET A:759, MET A:909, TRP A:755, PHE A:778, MET A:756, MET A:801, LEU A:763, LEU A:718, TYR A:890, LEU A:797, CYS A:891, PHE A:794, LEU A:887, LEU A:715.



Interactions

- van der Waals
- Conventional Hydrogen Bond

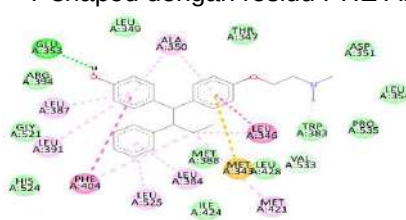
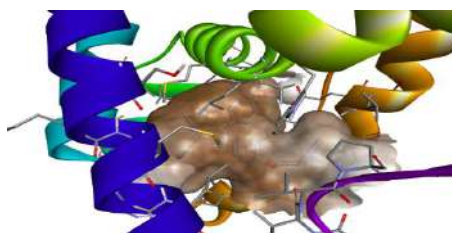


- Pi-Sigma
- Pi-Pi T-shaped

Gambar 6 Visualisasi interaksi senyawa quercetin pada reseptor progesterone 1ZUC

Berdasarkan **Gambar 6** menunjukkan lebih banyak interaksi mencakup pembentukan ikatan hidrogen dengan residu asam amino metionin pada posisi 759, glutamin pada posisi 725, dan leusin pada posisi 718 dari rantai A, serta ikatan hidrofobik seperti interaksi van der

Waals dengan residu VAL A:760, LEU A:763, ARG A:766, LEU A:721, GLY A:722, ASN A:719, TRP A:755, MET A:909, PHE A:905, CYS A:891, TYR A:890, LEU A:797, dan LEU A:887. Selain itu, terdapat interaksi Pi-Sigma dengan residu MET A:756 dan interaksi Pi-Pi T-shaped dengan residu PHE A:778.

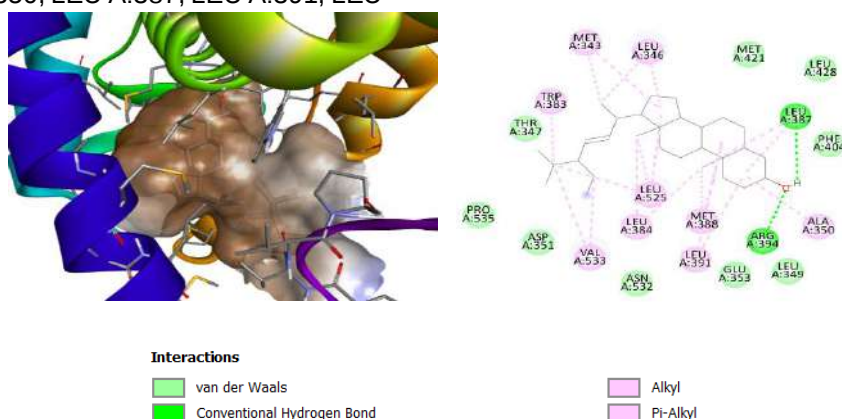




Gambar 7 Visualisasi interaksi native ligan pada reseptor estrogen 5W9C

Berdasarkan **Gambar 7**, terdapat interaksi ikatan hidrogen pada residu asam glutamat pada posisi 353 rantai A dan beberapa ikatan hidrofobik yaitu interaksi van der Wall, ikatan karbon hidrogen, Pi-sulfur, Pi Pi T- shaped, Amide-Pi Stacked, Alkyl, dan Pi-alkyl diantaranya MET A:343, PHE A:404, LEU A:346, ALA A:350, LEU A:387, LEU A:391, LEU

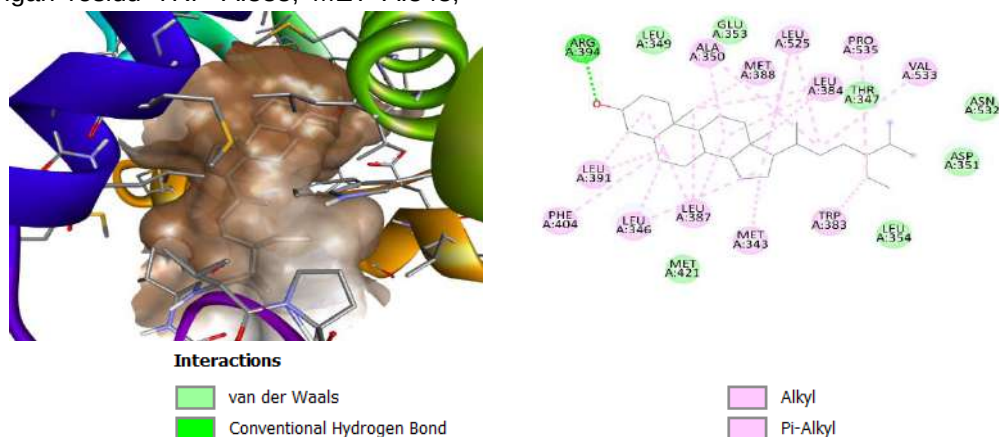
A:525, LEU A:384, MET A:421, ARG A:394, GLY A:521, HIS A:524, MET A:388, ILE A:424, LEU A:428, VAL A:533, TRP A:383, PRO A:535, LEU A:354, ASP A:351, THR A:347, LEU A:349, LEU A:428, VAL A:533, TRP A:383, PRO A:535, LEU A:354, ASP A:351, THR A:347, LEU A:349.



Gambar 8 Visualisasi interaksi senyawa stigmasterol pada reseptor estrogen 5W9C

Berdasarkan **Gambar 8** 5W9C terdapat interaksi ikatan hidrogen dengan residu arginin pada posisi 394 dan leusin pada posisi 387 rantai A, serta beberapa ikatan hidrofobik seperti interaksi van der Waals, alkil, dan pi-alkil dengan residu TRP A:383, MET A:343,

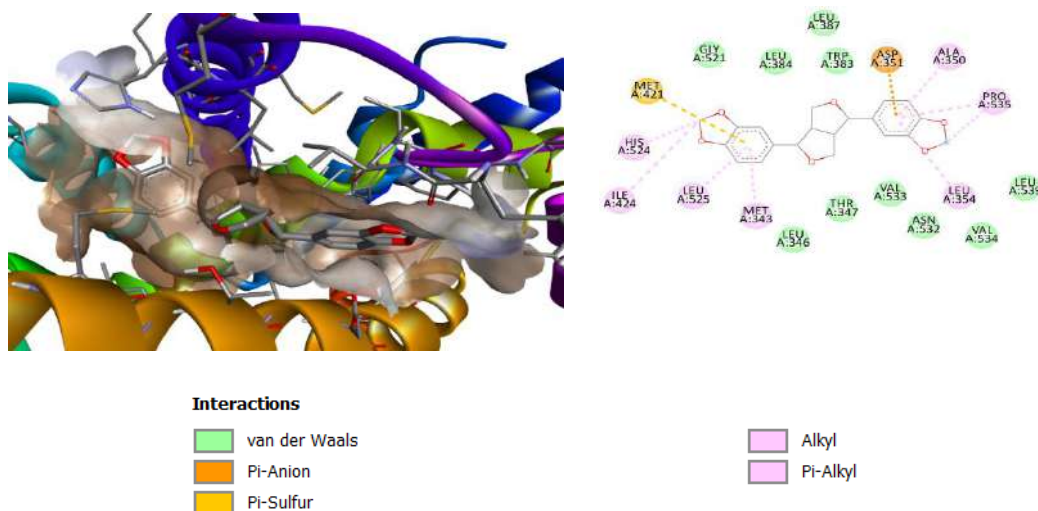
LEU A:346, VAL A:533, LEU A:384, LEU A:525, MET A:388, LEU A:391, ALA A:350, THR A:345, PRO A:535, ASP A:351, ASN A:532, GLU A:353, LEU A:349, MET A:421, LEU A:429, dan PHE A:404.



Gambar 9 Visualisasi interaksi senyawa beta sitosterol pada reseptor estrogen 5W9C

Berdasarkan **Gambar 9** interaksi mencakup pembentukan ikatan hidrogen dengan residu asam amino ARG pada posisi 394 dari rantai A dan ikatan hidrofobik seperti interaksi van der Waals dengan residu LEU A:349, GLU A:353, THR A:347, ASN A:532, ASP A:351, LEU

A:354, dan MET A:421. Selain itu, terdapat interaksi alkil dan pi-alkil dengan residu PHE A:404, LEU A:391, LEU A:346, LEU A:387, MET A:343, TRP A:383, VAL A:533, PRO A:535, LEU A:525, ALA A:350, MET A:388, dan LEU A:384.



Gambar 10 Visualisasi interaksi senyawa sesamin pada reseptor estrogen 5W9C

Berdasarkan **Gambar 10** menunjukkan beberapa interaksi pada sisi aktifnya, termasuk ikatan hidrofobik seperti interaksi pi-anion dengan residu ASP A:351, pi-sulfur dengan residu MET A:421, serta interaksi alkil dan pi-alkil dengan residu GLY A:521, LEU A:384, LEU A:387, TRP A:383, LEU A:346, THR A:347, VAL A:533, ASN A:532, VAL A:534, LEU A:539, HIS A:524, ILE A:424, LEU A:525, MET A:434, LEU A:354, PRO A:535, dan ALA A:350.

Screening ligan (drug scan)

Screening ligand Aturan Lipinski digunakan untuk menyaring molekul obat calon (ligan) berdasarkan kemampuannya menembus sel dan berinteraksi dengan target molekul di dalam tubuh. *Aturan Lipinski* menetapkan batasan-batasan tertentu untuk sifat fisikokimia suatu senyawa agar dapat dianggap sebagai calon obat yang potensial. (*Lipinski's Rule of Five*), (Ruswanto, Richa Mardianingrum Siswandono, Dini Kesuma, 2020).

Tabel 4 Pengujian Lipinski Rule of Five Senyawa Uji

Senyawa	Parameter				
	Berat Molekul (<500)	Donor Ikatan Hidrogen (<5)	Akseptor Ikatan Hidrogen (<10)	Log P (<5)	Refractory Molar (40 – 130)
Kaempferol	286,000	4	6	0,646	62,824
Sesamin	354,000	0	6	3,077	87,342
Stigmasterol	412,000	1	1	7,541*	147,861*
Quercetin	302,000	5*	7	0,524	64,369
Beta-Sitosterol	414,000	1	1	7,745*	150,195*

* : nilai yang tidak memenuhi aturan Lipinski

Berdasarkan **Tabel 4**, ada 3 senyawa yang tidak memenuhi aturan Lipinski diantaranya senyawa stigmasterol, quercetin, dan beta-sitosterol. Senyawa stigmasterol dan beta-sitosterol tidak memenuhi karena $\log p > 5$ dan Refraktivitas Molar tidak berada pada rentang 40-130. Senyawa quercetin tidak memenuhi karena memiliki 5 donor ikatan hidrogen.

Prediksi Profil Farmakokinetik dan Toksisitas

Analisis pengujian profil ADMET menggunakan server online pkCSM bertujuan untuk mengetahui suatu obat ketika masuk dalam tubuh yang bisa diakses melalui situs website <https://biosig.unimelb.edu.au/pkcsml/prediction> dengan cara memasukan struktur SMILES. Berikut data hasil analisis profil ADMET pada senyawa uji dapat dilihat pada **Tabel 5**.

Tabel 5 Prediksi ADMET Senyawa Tanaman Babandotan (*Argentum conyzoides* L.)

Senyawa	Absorbsi	Distribusi	Metabolisme		Eksresi	Toksisitas
	Absorbsi pada usus (%)	BBB permeability (log BB)	CYP 2D6 Inhibitor or	CYP 3A4 Inhibitor	Total Clearance (log/ml/min/kg)	Hepatotoksik
Kaempferol	74,29	-0,939	Tidak	Tidak	0,477	Tidak
Sesamin	97,81	-0,862	Tidak	Ada	-0,126	Tidak
Stigmasterol	94,97	-0,771	Tidak	Tidak	0,618	Tidak
Quercetin	77,207	-1,098	Tidak	Tidak	0,407	Tidak
Beta-Sitosterol	94,464	0,781	Tidak	Tidak	0,628	Tidak

Senyawa dianggap baik jika memiliki nilai absorpsi $> 80\%$, sedangkan nilai absorpsi $< 30\%$ menunjukkan kualitas yang kurang baik (Dwi et al., 2020). Dari kelima senyawa hanya sesamin, stigmasterol, dan beta-sitosterol yang memiliki nilai absorpsi yang baik $> 80\%$.

Blood Brain Barrier Permeability kemampuan obat untuk menembus sawar darah-otak. Senyawa dianggap mampu melintasi sawar darah-otak dengan baik jika nilai $\log BB$ -nya lebih dari 0,3, dan dianggap kurang efektif dalam distribusi jika nilai $\log BB$ -nya kurang dari -1 (Dwi et al., 2020). Senyawa kaempferol, sesamin, stigmasterol, dan beta-sitosterol dapat terdistribusi karena memiliki nilai $\log BB$ tidak < -1 dan tidak $> 0,3$.

Sitokrom P450 adalah enzim utama dalam metabolisme obat. Enzim ini berperan dalam mengubah obat menjadi bentuk yang lebih mudah dikeluarkan dari tubuh (Febri et al., 2023). Berdasarkan **Tabel 5**, senyawa kaempferol, quercetin, stigmasterol, dan beta-sitosterol tidak mempengaruhi atau menghambat enzim CYP 2D6 dan enzim CYP

3A4, sehingga senyawa dapat diprediksi biasanya dimetabolisme oleh enzim P450.

Ekskresi renal suatu senyawa dapat diprediksi berdasarkan interaksi substrat dengan Renal *Organic Cation Transporter 2* (OCT2) dan nilai klirens renal total. Nilai *clearance* keseluruhan dapat digunakan untuk memperkirakan ekskresi. Semakin tinggi nilai ekskresinya, semakin cepat senyawa tersebut diekskresikan melalui hati, saluran empedu dan ginjal (Febri et al., 2023).

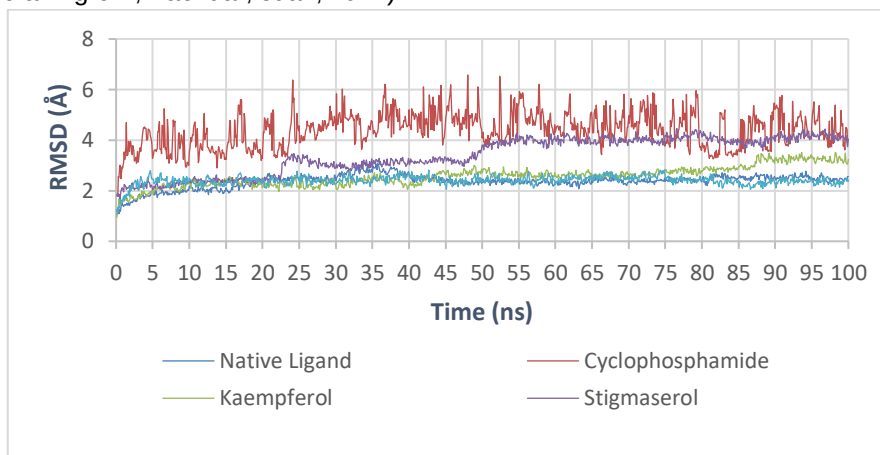
Hepatotoksisitas dilakukan untuk mengetahui suatu senyawa beracun atau tidak, terutama terhadap hati. Hasil uji toksisitas hati menunjukkan bahwa senyawa kaempferol, sesamin, quercetin, stigmasterol, dan beta-sitosterol tidak memiliki sifat toksik.

Molecular Dynamic

Tujuan simulasi *Molecular Dynamic* untuk mengamati stabilitas interaksi antara ligan dan protein dalam kondisi yang mendekati keadaan fisiologis tubuh selama periode waktu tertentu. Hasil dari penambatan molekul dikombinasikan dengan teknik simulasi *Molecular Dynamic* untuk memperoleh hasil yang lebih akurat.

Analisis hasil simulasi Molecular Dynamic dilakukan dengan dua parameter RMSD dan RMSF adalah metrik yang umum digunakan untuk mengukur perbedaan bentuk atau fleksibilitas molekul dalam simulasi dinamika molekul (Mardianingrum, Bachtiar, et al., 2021).

interaksi pada saat proses molecular dynamic dari native ligand 1ZUC, kaempferol, stigmasterol, quercetin, dan serta obat pembanding cyclophosphamide dapat dilihat pada **Gambar 11**.



Gambar 11 Plot RMSD native ligand, obat pembanding chclophosphamide, senyawa kaempferol, stigmasterol, dan quercetin pada reseptor 1ZUC

Berdasarkan **Gambar 11** dengan waktu simulasi 100ns. Terlihat bahwa obat pembanding cyclophosphamide mengalami fluktuasi sepanjang waktu simulasi dan mencapai kestabilan pada rentang waktu 30-80ns pada 5Å. Selanjutnya, native ligand menunjukkan kestabilan pada rentang waktu rentang waktu 15-100ns pada 2-3Å. Adapun tiga senyawa uji dari tanaman babandotan, yaitu kampferol, stigmasterol, dan quercetin. Kaemferol sendiri menunjukkan kestabilan pada rentang waktu 10-85ns pada 2-3Å. Selanjutnya, senyawa uji Stigmasterol yang

menunjukkan kestabilan pada rentang waktu 50-100ns pada 4Å, serta senyawa quercetin yang menunjukkan kestabilan pada rentang waktu 3-100ns pada 2-3Å. Hal ini menunjukan bahwa senyawa-senyawa dari tanaman babandotan dan native ligand memiliki stabilitas yang tinggi dalam ikatan dengan target molecular dibandingkan dengan obat pembanding yang dapat menjadi indikasi potensial untuk dikembangkan sebagai kandidat obat yang lebih stabil (Ruswanto et al., 2021).

Tabel 6 Hasil Analisis Parameter RMSD

No	Senyawa	Rata-rata (Å)	Maksimal (Å)	Minimal (Å)
1	Native Ligand	2,3	3,0	1,0
2	Cyclophosphamide	4,3	6,5	1,7
3	Kaemferol	2,5	3,5	0,9
4	Stigmasterol	3,3	4,4	1,6
5	Quercetin	3,3	2,8	1,0

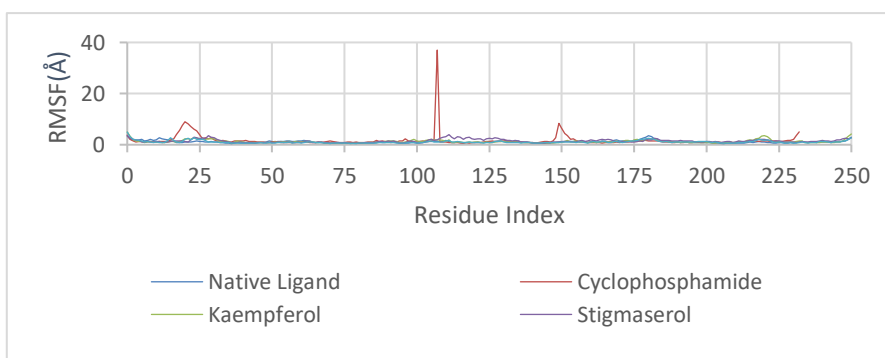
Dapat dilihat dari **Tabel 6**, hasil analisis menunjukan bahwa ketiga senyawa uji, yaitu kaempferol, stigmasterol, dan quercetin memiliki nilai rata-rata RMSD melebihi native

ligand tetapi tidak melebihi obat pembanding cyclophosphamide. hasil analisis menunjukan bahwa ketiga senyawa uji, yaitu kaempferol, stigmasterol, dan quercetin memiliki nilai rata-

rata RMSD melebihi native ligand tetapi tidak melebihi obat perbandingan cyclophosphamide. Nilai RMSD yang konsisten menunjukkan bahwa kompleks protein-ligan telah mencapai keadaan yang stabil, di mana protein mempertahankan konformasinya. Peningkatan RMSD mengindikasikan protein mengalami perubahan konformasi, kemungkinan untuk mengakomodasi pengikatan ligan. Fluktuasi RMSD yang tinggi dapat mengindikasikan disosiasi kompleks dan potensi denaturasi protein (Muttakin, 2019).

Fleksibilitas residu lokal ditentukan menggunakan *Root Mean Square Fluctuation*

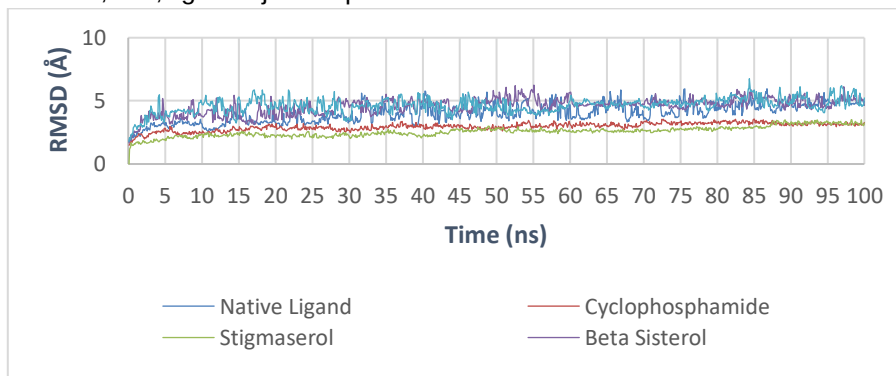
(RMSF), dan ligan RMSF dievaluasi untuk melihat fluktuasi atom ligan. RMSF adalah RMSD rata-rata dari waktu ke waktu ketika fluktuasi sistem dinamis melebihi rata-rata yang ditentukan dengan baik. Cukup nyaman untuk menentukan residu mana yang penting untuk perubahan konformasi dengan melihat RMSF untuk setiap atom karbon dalam residu. Jika RMSF dari residu ini berfluktuasi lebih banyak dalam simulasi, itu menunjukkan bahwa residu memiliki cukup banyak fleksibilitas.



Gambar 12 Plot RMSF native ligand, obat perbandingan chclophosphamide, senyawa kaempferol, stigmasterol, dan quercetin pada reseptor 1ZUC

Berdasarkan **Gambar 12** RMSF untuk native ligand, obat perbandingan cyclophosphamide, dan ligan uji kaempferol, stigmasterol, serta quercetin memiliki fluktuasi residu di area yang hampir sama. Dilihat dari rata-rata RMSF native ligand yaitu 1,11Å, obat perbandingan cyclophosphamide 1,65Å, ligan uji kaempferol

1,25Å, stigmasterol 1,44Å, dan ligan uji quercetin 1,06Å. Data tersebut membuktikan bahwa simulasi antara senyawa dengan protein 1ZUC memiliki fleksibilitas dan interaksi antara ligan dengan setiap residu asam amino (Ruswanto et al., 2021).



Gambar 13 Plot RMSD native ligand, obat perbandingan chclophosphamide, senyawa stigmasterol, beta sitosterol, dan sesamin pada reseptor 5W9C

Berdasarkan **Gambar 13** dengan waktu simulasi sebesar 100ns terlihat native ligand mengalami fluktuasi sepanjang waktu simulasi dan mencapai kestabilan pada rentang waktu 30-80ns pada 3-6Å. Selanjutnya, beta-sitosterol mengalami fluktuasi serta menunjukkan kestabilan pada rentang waktu rentang waktu 60-100 ns pada 4-6Å. sesamin

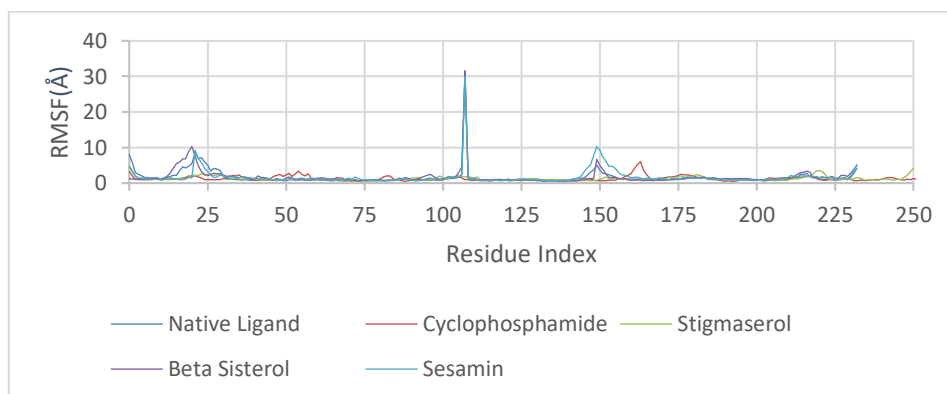
menunjukkan kestabilan pada rentang waktu 50-80ns pada 4-5Å. stigmasterol cukup stabil dibandingkan senyawa uji yang lainnya dengan rentang waktu 5-88ns pada 2-3Å dan cyclophosphamide sebagai obat pembanding yang memiliki kestabilan pada rentang 20-100ns pada 3Å.

Tabel 7 Hasil Analisis Parameter RMSD

No	Senyawa	Rata-rata (Å)	Maksimal (Å)	Minimal (Å)
1	Native Ligand	4,0	5,9	1,7
2	Cyclophosphamide	2,9	3,5	1,4
3	Stigmasterol	2,5	3,1	0,9
4	Beta sitosterol	4,5	6,2	1,6
5	Sesamin	4,6	6,7	1,7

Tabel 7 menunjukkan kedua senyawa uji, yaitu beta-sitosterol dan sesamin memiliki nilai rata rata RMSD melebihi native ligand sedangkan senyawa uji stigmasterol dan obat pembanding cyclophosphamide nilai rata-ratanya tidak melebihi native ligand. Nilai

RMSD yang rendah mengindikasikan bahwa konformasi senyawa tersebut lebih stabil dan kurang mengalami fluktuasi dan kemampuan ikatan yang lebih baik dengan reseptor target dibandingkan ligan alami dan senyawa pembanding.



Gambar 14 Plot RMSF native ligand, obat pembanding cyclophosphamide, senyawa stigmasterol, beta sitosterol, dan sesamin pada reseptor 5W9C

Berdasarkan **Gambar 14** grafik RMSF untuk native ligand, obat pembanding cyclophosphamide, dan ligan uji stigmasterol, beta-sitosterol, serta sesamin memiliki fluktuasi residu di area yang hampir sama. Dilihat dari rata-rata RMSF native ligand yaitu 1,6Å, cyclophosphamide 1,2Å, ligan uji stigmasterol 1,2Å, beta-sitosterol 1,7Å, dan ligan uji

sesamin 1,7Å. Data tersebut membuktikan bahwa simulasi antara senyawa dengan protein 5W9C memiliki fleksibilitas dan interaksi antara ligan dengan setiap residu asam amino.

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini 33 senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada

Tanaman Babandotan (*Ageratum conyzoides* L) yang diduga memiliki aktivitas antikanker payudara, setelah dilakukan uji molecular docking didapatkan senyawa terbaik dengan nilai *binding affinity* terendah pada reseptor yaitu 1ZUC: kaempferol (-8,44 kkal/mol), stigmasterol (-8,36 kkal/mol), quercetin (-8,27 kkal/mol) dan pada reseptor 5W9C: stigmasterol (-11,32 kkal/mol), beta-sitosterol (-11,00 kkal/mol), dan sesamin (-8,45 kkal/mol). Pada pengujian *Lipinski* ada 11 senyawa yang tidak memenuhi kriteria *rule of five Lipinski* dari 33 senyawa termasuk stigmasterol dan beta-sitosterol. Kemudian pada farmakokinetik ada beberapa yang tidak memenuhi seperti quercetin tidak memenuhi kriteria distribusi pada BBB permeability, dan senyawa stigmasterol tidak memenuhi kriteria metabolisme CYP 3A4. Hasil evaluasi kestabilan interaksi dengan menggunakan simulasi *Molecular Dynamics* selama 100 ns pada reseptor 1ZUC yang lebih baik dari pada native ligand dan obat pembanding cyclophosphamide yaitu senyawa quercetin stabil pada rentang waktu 3-100ns pada 2-3Å. Sedangkan, pada reseptor 5W9C yang lebih baik dari pada native ligand dan obat pembanding cyclophosphamide yaitu senyawa stigmasterol 5-88 ns pada 2-3Å. Jadi, senyawa yang lebih baik daripada native ligand dan obat pembanding bisa dijadikan kandidat penemuan obat baru sebagai antikanker payudara.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Bakti Tunas Husada Tasikmalaya atas fasilitas penelitiannya.

DAFTAR PUSTAKA

- Adelya, L., Dewi, P. C., Auw, Z. C., Winengku, R. T. P., Mase, M., Setyaningsih, D., & Riswanto, F. D. O. (2022). Potensi Herba Bandotan (*Ageratum conyzoides* L.) sebagai Agen Antikanker Payudara. *Cendekia Journal of Pharmacy*, 6(1), 1–12. <https://doi.org/10.31596/cjp.v6i1.153>
- Aziz, A., Andrianto, D., & Safithri, M. (2022). Penambatan Molekuler Senyawa Bioaktif Daun Wungu (*Graptophyllum Pictum* (L) Griff) sebagai Inhibitor Tirosinase. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 9(2), 94. <https://doi.org/10.24198/ijpst.v9i2.36219>
- Dwi, D. K., Sasongkowati, R., & Haryanto, E. (2020). Studi in Silico Sifat Farmakokinetik, Toksisitas, Dan Aktivitas Imunomodulator Brazilein Kayu Secang Terhadap Enzim 3-Chymotrypsin-Like Cysteine Protease Coronavirus. *Journal of Indonesian Medical Laboratory and Science (JoIMedLabS)*, 1(1), 76–85. <https://doi.org/10.53699/joimedlabs.v1i1.14>
- Febri, F. A., Chilfi, T., Salamah, A. F., & Wilipangga, A. (2023). Analisis Farmakokinetik Dan Toksisitas Pada Kandungan Fenolik Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Menggunakan In Silico pkCMS Dan Protox II. *Jurnal Bina Cipta Husada*, 19(1), 108–117.
- Hanif, A. U., Lukis, P. A., & Fadlan, A. (2020). Pengaruh Minimisasi Energi MMFF94 dengan MarvinSketch dan Open Babel PyRx pada Penambatan Molekuler Turunan Oksindola Tersubstitusi. *Alchemy*, 8(2), 33–40. <https://doi.org/10.18860/al.v8i2.10481>
- Islam, M. K., Barman, A. C., & Qais, N. (2020). Anti-Cancer Constituents from Plants: Mini Review. *Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences*, 19(1), 83–96. <https://doi.org/10.3329/dujps.v19i1.47823>
- Kalontong, P. K., Safithri, M., & Tarman, K. (2022). Molecular Docking of Active Compound of Spirulina platensis as TMPRSS2 Inhibitor to Prevent the SARS-COV-2 Infection. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 25(2), 253–267. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v25i2.40645>
- Kotta, J. C., Lestari, A. B. S., Candrasari, D. S., & Hariono, M. (2020). Medicinal Effect, in Silico Bioactivity Prediction, and Pharmaceutical Formulation of *Ageratum conyzoides* L.: A Review. *Scientifica*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/6420909>
- Kumar, S., Sharma, P. P., Upadhyay, C., Kempaiah, P., Rath, B., & Poonam. (2021). Multi-targeting approach for nsp3,

- nsp9, nsp12 and nsp15 proteins of SARS-CoV-2 by Diosmin as illustrated by molecular docking and molecular dynamics simulation methodologies. *Methods*, 195(February 2021), 44–56. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2021.02.017>
- Mardianingrum, R., Bachtiar, K. R., Susanti, S., Aas Nuraisah, A. N., & Ruswanto, R. (2021). Studi In Silico Senyawa 1,4-Naphthalenedione-2-Ethyl-3-Hydroxy sebagai Antiinflamasi dan Antikanker Payudara. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*, 17(1), 83. <https://doi.org/10.20961/alchemy.17.1.43979.83-95>
- Mardianingrum, R., Endah, S. R. N., Suhardiana, E., Ruswanto, R., & Siswandono, S. (2021). Docking and molecular dynamic study of isoniazid derivatives as anti-tuberculosis drug candidate. *Chemical Data Collections*, 32, 100647. <https://doi.org/10.1016/j.cdc.2021.100647>
- Muttaqin, F. Z. (2019). Molecular Docking and Molecular Dynamic Studies of Stilbene Derivative Compounds As Sirtuin-3 (Sirt3) Histone Deacetylase Inhibitor on Melanoma Skin Cancer and Their Toxicities Prediction. *Journal of Pharmacopolium*, 2(2), 112–121. <https://doi.org/10.36465/jop.v2i2.489>
- Ruswanto, Richa Mardianingrum Siswandono, Dini Kesuma, et al. (2020). Reverse Docking, Molecular Docking, Absorption, Distribution, and Toxicity Prediction of Artemisinin as an Anti-diabetic Candidate. *Reverse Docking, Molecular Docking, Absorption, Distribution, and Toxicity Prediction of Artemisinin as an Anti-Diabetic Candidate*, 15(2), 88–96.
- Ruswanto, R., Mardianingrum, R., & Yanuar, A. (2022). Computational Studies of Thiourea Derivatives as Anticancer Candidates through Inhibition of Sirtuin-1 (SIRT1). *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 25(3), 87–96. <https://doi.org/10.14710/jksa.25.3.87-96>
- Ruswanto, R., Miftah, A. M., Tjahjono, D. H., & Siswandono. (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(36), 100741. <https://doi.org/10.1016/j.cdc.2021.100741>
- Sari, I. W., Junaidin, J., & Pratiwi, D. (2020). Studi Molecular Docking Senyawa Flavonoid Herba Kumis Kucing (Orthosiphon Stamineus B.) Pada Reseptor A-Glukosidase Sebagai Antidiabetes Tipe 2. *Jurnal Farmagazine*, 7(2), 54. <https://doi.org/10.47653/farm.v7i2.194>
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>