



Kuersetin: Penghambat Uridin 5-Monofosfat Sintase sebagai Kandidat Antikanker

Ruswanto Ruswanto^{a*}, Imam Mustaqim Garna^a, Lilis Tuslinah^a, Richa Mardianingrum^b, Tresna Lestari^a, Tita Nofianti^a

^a Program Studi Farmasi, STIKes Bakti Tunas Husada, Jl. Cilolohan No. 36 Tasikmalaya 46115

^b Program Studi Farmasi, Universitas Perjuangan, Jl. Peta No. 177 Tasikmalaya 46115

* Corresponding author

E-mail: ruswanto@stikes-bth.ac.id

DOI: 10.20961/alchemy.14.2.14396.236-254

Received 12 September 2018, Accepted 05 May 2018, Published Online 03 September 2018

ABSTRAK

Kanker adalah pembentukan jaringan baru yang abnormal dan bersifat ganas. Efek toksisitas yang ditimbulkan pada setiap senyawa obat antikanker selalu menjadi problem dalam pengobatan kanker dengan cara kemoterapi, maka dari itu perlu dicari alternatif lain untuk mengatasi kanker. Kuersetin telah diketahui mempunyai aktivitas sitotoksik pada sel kanker tapi belum diketahui mekanisme kerjanya. Pada penelitian ini telah dilakukan penelitian *in silico* untuk mengetahui target reseptor dari senyawa kuersetin melalui identifikasi target reseptor melalui <http://lilab.ecust.edu.cn/pharmmapper/> dan studi interaksi melalui metode *docking*. Hasil menunjukkan bahwa kuersetin memiliki aktivitas pada target reseptor proto-onkogen protein-tirosin kinase dan uridin 5-monofosfat sintase. Berdasarkan nilai energi bebas (ΔG) dari hasil *docking* dapat disimpulkan kuersetin memiliki aktivitas terbaik pada protein target uridin 5-monofosfat sintase dengan nilai energi *binding affinity* sebesar -8,28617 kkal/mol dan berinteraksi dengan residu asam amino yang sesuai dengan *active site* dari protein target reseptor uridin 5-monofosfat sintase yaitu membentuk 2 ikatan hidrogen dengan residu *Tyr 432* dan *Gly 450* dan kontak bagian hidrofobik dengan residu *Asn 312*, *Met 371*, *pro 417*.

Kata kunci: antikanker, *docking*, kuersetin, *pharmmapper*

ABSTRACT

Quercetin: Uridine 5-Monophosphate Synthase Inhibitor as Anticancer Candidate. Cancer is the abnormal formation of new tissue and malignant. Toxicity effects inflicted on any anti-cancer drug compounds has always been a problem in the treatment of cancer by chemotherapy, therefore it is necessary to find other alternatives to treat cancer. Quercetin has been known to have cytotoxic activity on cancer cells but unknown mechanism of action. This study has been conducted *in silico* to determine the receptor target of the quercetin compound through the identification of target receptors by <http://lilab.ecust.edu.cn/pharmmapper/> and interaction studies through docking methods. The results showed that the quercetin has activity on the receptor target proto-oncogene protein-tyrosine kinase and uridine 5- monophosphate synthase. Based on free energy value (ΔG) of the docking results we can conclude the quercetin has the best activity of the receptor target uridine 5- monophosphate synthase with a binding affinity energy value of -8.28617 kcal/mol and interacts with the amino acid residues to the active site of the receptor target 5-uridine monophosphate synthase which form two hydrogen bonds with *Tyr 432* and *Gly 450* and the hydrophobic contact with *Asn 312*, *Met 371*, and *pro 417*.

Keywords: anti-cancer, docking, *pharmmapper*, quercetin.

PENDAHULUAN

Berdasarkan Data Global Burden Cancer (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. Penyebab terbesar kematian akibat kanker setiap tahunnya antara lain kanker paru, hati, perut, kolorektal, dan kanker payudara. Kanker payudara, kanker prostat, dan kanker paru merupakan jenis kanker dengan persentase kasus baru (setelah dikontrol dengan umur) tertinggi, yaitu sebesar 43,3; 30,7 dan 23,1%. Sementara itu, kanker paru dan kanker payudara merupakan penyebab kematian tertinggi akibat kanker (Depkes, 2016).

Menurut Katzung *and* Bertram (2010), idealnya obat antikanker akan mengeradikasi sel kanker tanpa merusak jaringan yang normal. Akan tetapi, tidak ada obat yang tersedia yang sama sekali tidak menimbulkan toksisitas sehingga penggunaan klinisnya harus dilakukan dengan mempertimbangkan manfaat dan toksisitas untuk mencari indeks terapeutik yang paling menguntungkan (Katzung *and* Bertram, 2010).

Peningkatan angka kejadian kanker yang pesat dan belum adanya terapi yang dianggap tepat untuk mengatasinya memicu masyarakat pada umumnya dan peneliti pada khususnya untuk mengeksplorasi bahan-bahan alam yang dianggap potensial sebagai alternatif agen antikanker. Berdasarkan berbagai penelitian, senyawa dalam benalu yang diduga memiliki aktivitas antikanker adalah flavonoid, yaitu kuersetin yang bersifat inhibitor terhadap enzim DNA topoisomerase sel kanker. Benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) dan benalu nangka (*Macrosolen cochichinensis*) sebagaimana benalu teh (*Scurrula oortina*) mengandung flavonoid kuersetin yang memiliki sifat antikanker. Mekanisme senyawa aktif dalam benalu tersebut kemungkinan melalui aktivitas antioksidan. Kuersetin mampu menghambat ekspresi protein p53 mutan, tirosin kinase, *heat shock protein* dan siklooksigenase, serta menunjukkan afinitas yang sama dengan tamoxifen pada estrogen reseptor (Ikawati *et al.*, 2008).

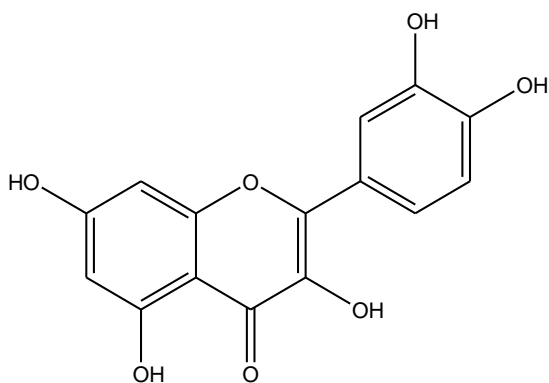
Pengembangan obat modern saat ini berorientasi pada target yang spesifik. Umumnya target-target spesifik tersebut berupa makromolekul khususnya protein yang terlibat langsung pada patogenesis suatu penyakit. Semakin berkembang ilmu dan teknologi, semakin banyak pula pengetahuan yang lebih rinci mengenai patogenesis molekuler, dan dapat juga mengidentifikasi protein-protein yang strategis sebagai target pengobatan. Demikian juga teknik-teknik yang dikembangkan semakin banyak dan memberikan akurasi

yang tinggi terhadap studi mekanisme interaksi obat dan reseptor spesifik. Salah satu teknik yang dikembangkan yang saat ini banyak digunakan adalah teknik *docking* yang menggunakan perangkat lunak yang berbasis komputer (Purnomo, 2013).

Berdasarkan penelitian sebelumnya telah dilakukan tentang kuersetin sebagai antikanker baik secara *in vitro*, *in vivo* ataupun *in silico* (Baghel *et al.*, 2012; Hazhemzaei *et al.*, 2017; Priya *et al.*, 2013; Chimiche *et al.*, 2017; Adawiyah and Artika, 2016). Penelitian ini dirancang untuk mengidentifikasi target reseptor dari kuersetin sebagai kandidat antikanker secara *in silico* dengan cara melakukan identifikasi protein target kuersetin berdasarkan farmakofornya dan studi interaksinya melalui metode *reverse docking*. Berdasarkan metode ini, prediksi urutan reseptor yang terbaik sampai terendah untuk kuersetin dapat dihasilkan.

METODE PENELITIAN

Peralatan yang digunakan berupa perangkat keras dan lunak. Perangkat keras yang digunakan berupa personal komputer dengan spesifikasi Intel(R) Core(TM) i3 CPU M 350 @ 2.27GHz, 4.00 GB of RAM 32-bit Operating System serta perangkat lunak yang digunakan seperti *ArgusLab*, *MarvinSketch* versi 5.2.5.0, *LigPlot* dan beberapa program yang berbasis web seperti *Pharmmapper*, *PdbSum*. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kuersetin yang ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. 3,5,7,3',4'-pentahidroksiflavan.

Preparasi Ligan

Ligan kuersetin digambar dengan *program* MarvinSketch, kemudian struktur kuersetin dilakukan protonasi pada pH 7,4 disesuaikan dengan pH tubuh. Selain itu, struktur kuersetin juga dilakukan *Conformational search* untuk mendapatkan struktur kuersetin yang paling stabil, metode optimasi menggunakan *Dreiding force field*. Prosedur tersebut dilakukan untuk semua *ligan* (Ruswanto, 2015).

Identifikasi Protein Target

Identifikasi protein target ini berdasarkan hasil dari farmakofor senyawa kuersetin. Definisi farmakofor menurut IUPAC adalah sekumpulan sterik dan elektronik yang penting untuk menjamin interaksi supramolekuler yang optimal dengan struktur target biologis yang spesifik dan untuk memicu atau menghambat respon biologisnya (Drie, 2007). Kuersetin yang dibuat pada proses preparasi ligan diunggah pada website <http://lilab.ecust.edu.cn/pharmmapper/> untuk dilakukan interaksi dengan berbagai reseptor yang ada di database Phymmapper. Dari proses Phymmapper didapatkan urutan farmakofor terbaik sampai terendah (Liu *et al.*, 2010; Ruswanto *et al.*, 2015).

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 dan metode yang digunakan adalah *ArgusDock* (Pebriana *et al.*, 2008). 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 (Adelin *et al.*, 2013).

Analisis Protein Target

Plot Ramachandran digunakan untuk memvisualisasikan koordinat tiga dimensi protein yang telah ditentukan melalui eksperimen ke dalam koordinat internal, Koordinat internal terdiri dari sudut dihedral Φ (phi) sebagai sumbu x dan sudut ψ (psi) sebagai sumbu y residu asam amino dari struktur protein. Secara matematis, plot Ramachandran adalah visualisasi dari sebuah fungsi, caranya yaitu dengan melihat plot residu non glisin yang terletak pada wilayah sudut dihedral yang dilarang (*disallowed regions*). Suatu struktur protein dinyatakan baik jika jumlah plot residu yang terdapat pada *disallowed regions* kurang dari 0,8% (Gunasekaran *et al.*, 1996).

Analisis protein target dilakukan dengan melihat profil protein PDB pada website <http://www.ebi.ac.uk/pdbsum/>. Hasil analisis protein yang digunakan untuk melihat bahwa protein yang digunakan baik adalah plot Ramachandran.

Docking Ligan Uji dan Visualisasi Interaksi terhadap Protein Target

Proses *docking* digunakan *software ArgusLab*, masukkan protein target atau reseptor dan struktur senyawa uji. Kemudian senyawa uji di-*docking*-kan pada *ligan binding site receptor* sesuai dengan *gridbox* ($x=11,5$; $y=11,5$ dan $z=13,9$) yang telah dipakai pada proses validasi dengan metode *ArgusDoc*. Hasil yang diperoleh dari proses *docking* ini adalah berupa *energy best ligand pose* atau berupa *binding affinity* senyawa. Selanjutnya dari proses *docking* dapat dilihat interaksi antara ligan dengan sisi aktif reseptor menggunakan *software LigPlot* (Wallace *et al.*, 1996).

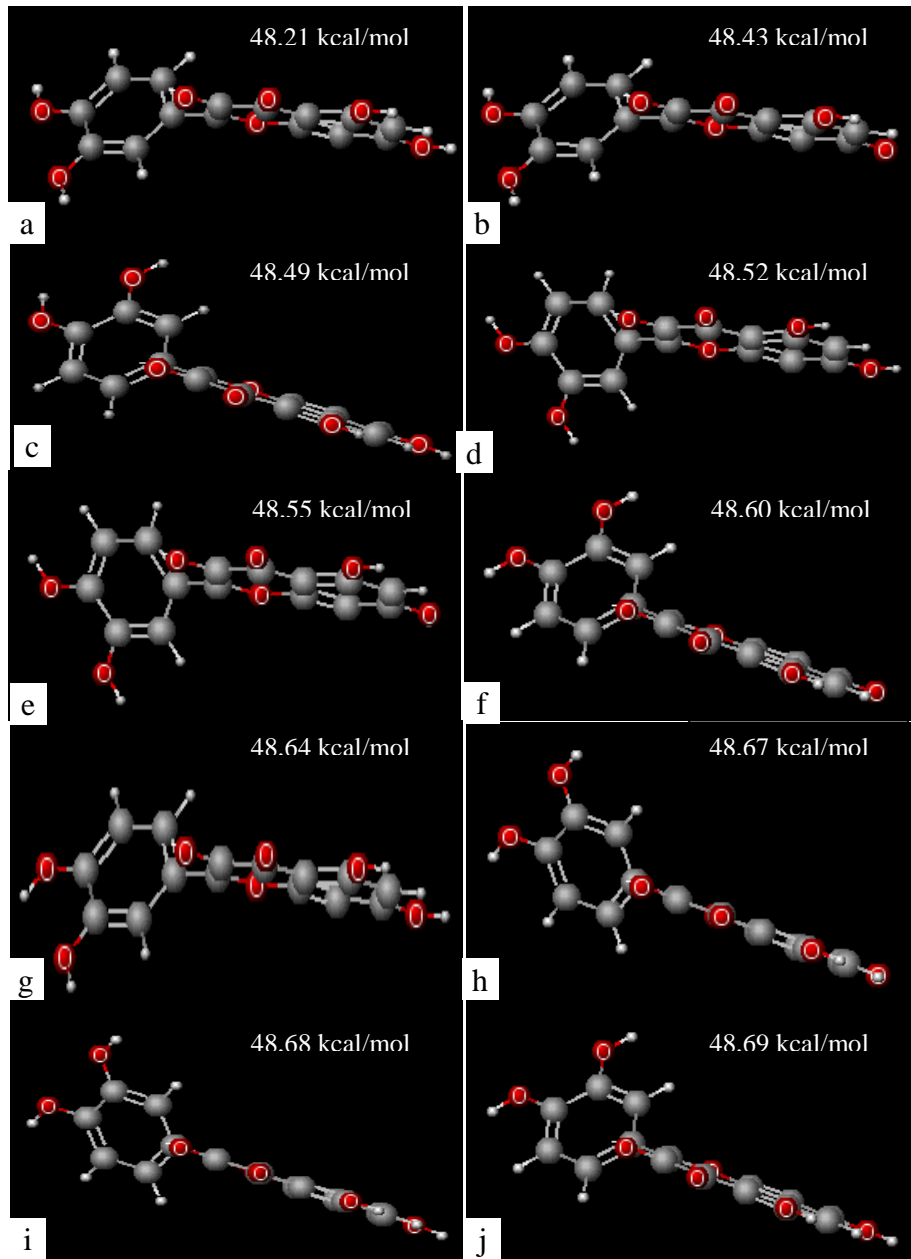
HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Ligan

Senyawa ligan digambarkan struktur dua dimensinya secara manual menggunakan *software MarvinSketch*. Kemudian struktur yang terbentuk dilakukan optimasi dan protonasi sehingga ada pada pH 7,4 dengan metode *Major Microspecies* untuk mendapatkan struktur atau senyawa yang sesuai dengan pH darah. Selanjutnya dilakukan *conformation search* untuk mendapatkan struktur yang paling sesuai dan cocok dengan reseptor atau protein target. Penentuan konformasi ini menggunakan metode *conformers* dan terdapat 10 konformasi (Gambar 2) yang mewakili semua posisi ligan (Agistia *et al.*, 2013).

Identifikasi Protein Target

Identifikasi protein target kuersetin menunjukkan bahwa terdapat 300 *ranking* jenis *PDB IDE* (Tabel 1). Berdasarkan data tersebut terdapat 10 jenis protein target yang diindikasikan sebagai target reseptor untuk kanker, antara lain 1R1J (*Neprilysin. Important cell surface marker in the diagnostic of human acute lymphocytic leukemia*), 1O4G (*Proto-oncogene tyrosine-protein kinase. Hypercalcemia, cancer, metastasis, solid tumor*). 1DAN (*Coagulation factor. Cancer*). 1FBZ (*Proto-oncogene tyrosine-protein kinase. Cancer*). 2CAN (*Ornithine aminotransferase. Cancer*). 1J1B (*Glycogen synthase kinase-3 beta. Breast tumor, chronic lymphocytic leukemia, prostate tumor, solid tumor, cancer, lung cancer, carcinoma, ovary tumor*). 1O4A (*Proto-oncogene tyrosine-protein kinase. Cancer, solid tumor*). 2QCF (*Uridine 5-monophosphate synthase. Squamous cell carcinoma, biliary cancer, cancer, lung cancer, gastrointestinal tumor, breast tumor, lung tumor, head and neck tumor, colorectal tumor, prostate tumor, pancreas tumor, hepatocellular carcinoma, stomach tumor*). 1NMS (*Caspase-3. Cancer*). 1B55 (*Tyrosine-protein kinase. Lymphoma*). Sepuluh reseptor ini dipilih karena merupakan reseptor mekanisme kerja dari antikanker yang sudah ada.



Gambar 2. Struktur Kuersetin Hasil Konformasi.

Tabel 1. Hasil Identifikasi Protein Target

No	PDB ID	No	PDB ID	No	PDB ID	No	PDB ID	No	PDB ID	No	PDB ID
1.	2BKL	51.	1EC8	101.	1C85	151.	1DVU	201.	1L4H	251.	1DOD
2.	1FMJ	52.	1O4G	102.	1KKR	152.	1BQ4	202.	2TSC	252.	1Z6Z
3.	1TU8	53.	1DAN	103.	1MN9	153.	2ZZ3	203.	1DQS	253.	1HV6
4.	1RML	54.	1M0S	104.	1LP6	154.	1U26	204.	1LOR	254.	1JV3
5.	1G2W	55.	1NR5	105.	1BIW	155.	1ZDF	205.	1V8V	255.	1QMG
6.	1MB9	56.	1JJT	106.	1LFW	156.	3H1P	206.	1RA3	256.	1C9C
7.	1BK0	57.	1OE0	107.	2QK8	157.	1Z6Q	207.	2DRC	257.	1JCX
8.	1GDE	58.	1C7O	108.	1IVE	158.	1EL3	208.	2QCF	258.	1UIM
9.	1KM6	59.	1SS9	109.	1TQU	159.	1O4A	209.	1O0N	259.	1BTN
10.	1I41	60.	1FQ0	110.	1TXZ	160.	1M5F	210.	1VFH	260.	1QCJ
11.	1R0Z	61.	1TZ2	111.	1ZDG	161.	1LNZ	211.	1PR4	261.	1B55
12.	1MX0	62.	1GEX	112.	1RU1	162.	1VMA	212.	1TQF	262.	1QH5
13.	1WC0	63.	1GS5	113.	3GI2	163.	1K1P	213.	1RYF	263.	1DY9
14.	2PGT	64.	1MRN	114.	1LL2	164.	1UBW	214.	1CJ3	264.	4AIG
15.	1HB2	65.	1TZK	115.	1FBZ	165.	1W4O	215.	1S22	265.	2BEL
16.	1EV9	66.	1GSJ	116.	2CAN	166.	1VKJ	216.	1DGJ	266.	1C88
17.	1SJB	67.	1B9V	117.	1OG4	167.	1VZD	217.	1NKT	267.	2PU2
18.	1PVG	68.	1DAJ	118.	1SDE	168.	3G3D	218.	1KK3	268.	1VCJ
19.	1OBN	69.	1TVV	119.	1YHL	169.	2G8M	219.	1PCW	269.	1XQD
20.	1V40	70.	1UJ6	120.	1K0I	170.	3AIG	220.	1A59	270.	1R6U
21.	1PX6	71.	1M2G	121.	1DRB	171.	1HNL	221.	1M2X	271.	1QX6
22.	1UM8	72.	1BGN	122.	1SCW	172.	1S7G	222.	1OW4	272.	1O87
23.	1N0T	73.	1EKO	123.	2ZZ2	173.	2AY5	223.	1K6R	273.	1RPF
24.	1EKX	74.	1UXR	124.	1RJE	174.	1FGH	224.	1UXA	274.	1MMJ
25.	2BET	75.	1MIY	125.	1ITU	175.	1XEY	225.	1IIN	275.	1INF
26.	1PD2	76.	1ISS	126.	1J1N	176.	1W27	226.	1NMS	276.	1KBC
27.	1I5G	77.	1SFF	127.	3TMK	177.	1PL1	227.	1WT2	277.	2KCE
28.	1ANK	78.	1Q36	128.	1EYE	178.	1C81	228.	1O98	278.	1EIX
29.	1L5V	79.	2FPY	129.	1PSO	179.	1QPN	229.	1LS6	279.	1TA8
30.	1R89	80.	1CKO	130.	1XLR	180.	3G3M	230.	1DHI	280.	1VA6
31.	1GOY	81.	1SR9	131.	1V47	181.	1QHG	231.	1QPQ	281.	1KEK
32.	1Q7G	82.	1GSQ	132.	16PK	182.	1T8T	232.	1WVG	282.	1V0O
33.	1UZW	83.	1SVW	133.	1Q17	183.	1UZF	233.	1TQ9	283.	1EFH
34.	1LS3	84.	1AXW	134.	1CJ4	184.	1TDU	234.	1I5D	284.	2KMB
35.	1JKI	85.	2SFP	135.	1IOW	185.	6ALD	235.	1QG4	285.	1JED
36.	1VC8	86.	1DRA	136.	3C7Q	186.	1CQ8	236.	1IJE	286.	1HJ6
37.	1R1J	87.	1KMM	137.	1VHT	187.	1G2V	237.	1QBT	287.	1SVG
38.	1UXQ	88.	1Q7C	138.	1GMN	188.	1THZ	238.	1FR6	288.	1SUI
39.	1KBN	89.	1UCA	139.	1LW4	189.	1GWC	239.	1DLS	289.	1KV9
40.	1M7B	90.	1CEL	140.	2ZZ4	190.	2ZZ5	240.	1XA4	290.	1H1T
41.	1MD4	91.	1FJ6	141.	1F3B	191.	1I52	241.	1R4W	291.	1YBV
42.	1PS6	92.	1PBE	142.	1W4P	192.	1FLG	242.	1KT8	292.	1W5S
43.	1NWK	93.	1XTU	143.	1SYL	193.	1KM3	243.	1B9S	293.	1RFU
44.	1U27	94.	1YTK	144.	1QJF	194.	1ARI	244.	1I29	294.	1KF0
45.	1FHX	95.	1JK7	145.	3DRC	195.	1P75	245.	1L6Y	295.	2QBP
46.	1EV4	96.	1CBX	146.	1ATL	196.	1Y3N	246.	1OE7	296.	1S9T
47.	1NHH	97.	1IOV	147.	4TMN	197.	2Q8Z	247.	1QBB	297.	1RNN
48.	1SM8	98.	1BKW	148.	1P0Y	198.	1C47	248.	1JXZ	298.	1LVG
49.	1QXO	99.	1HYT	149.	1J1B	199.	1LEE	249.	1C72	299.	1WUR
50.	1EHI	100.	1PK8	150.	1DIH	200.	1MFZ	250.	1CRU	300.	1MK1

Validasi Docking

Validasi dengan cara menghitung RMSD dilakukan terlebih dahulu sebelum dilakukan *docking* menggunakan *software ArgusLab*. RMSD (*Root Mean Square Deviation*)

adalah parameter yang digunakan untuk mengevaluasi kemiripan dua buah struktur. Kemiripan tersebut diukur berdasarkan perbedaan jarak atom sejenis.

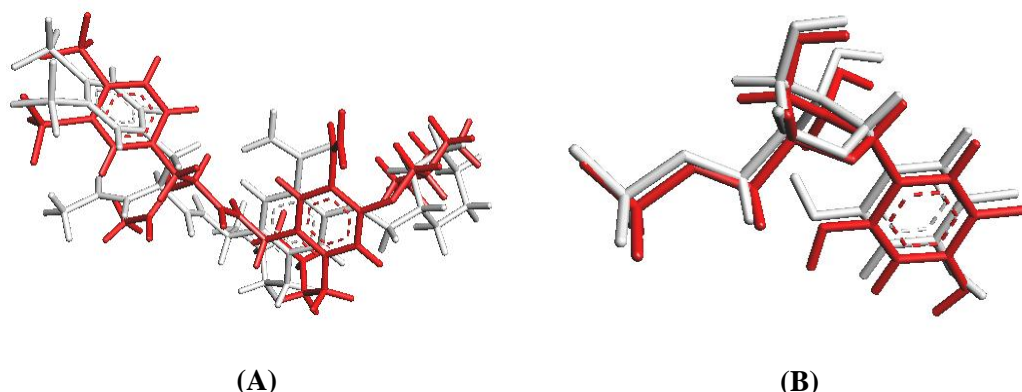
Metode yang digunakan dikatakan valid jika nilai RMSD yang diperoleh kurang dari atau sama dengan 2. *ArgusLab* menyediakan dua fasilitas *docking* yaitu *ArgusDock* dan *GADock*. Kedua metode ini memiliki perbedaan dalam hal pendekatan yang digunakan. Metode *ArgusDock* menggunakan pendekatan struktur dan ligan yang di-*docking*-kan hanya diarahkan pada suatu posisi tertentu. Sedangkan metode *GADock*, ligan yang di-*docking*-kan diarahkan pada berbagai posisi yang memungkinkan, sehingga metode *Argusdock* lebih reproduisibel dan *GADock* bersifat non reproduisibel

Proses validasi ini dibandingkan antara posisi ligan asli terhadap reseptor yang telah diuji secara eksperimental dengan posisi ligan yang sama (*ligan copy*) (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil Validasi *Docking*.

Kode PDB	Grid Box			RMSD (Å)	Energi Ikatan (ΔG)
	X	Y	Z		
1R1J	21,666356	22,835701	24,000000	6,8	-13,101 kcal/mol
1O4G	16,255846	14,000000	14,000000	2,8	-9,0937 kcal/mol
1DAN	-	-	-	-	-
1FBZ	22,482000	25,193002	19,044000	1,8	-12,5339 kcal/mol
2CAN	-	-	-	-	-
1J1B	15,250000	13,250000	16,750000	2,2	-7,26871 kcal/mol
1O4A	-	-	-	-	-
2QCF	11,500000	11,500000	13,900000	1,1	-9,77668 kcal/mol
1NMS	19,500000	26,995700	19,500000	2,1	-12,7943 kcal/mol
1B55	-	-	-	-	-

Berdasarkan data Tabel 2 didapatkan hasil yang valid, maka parameter docking yang digunakan memenuhi kriteria validitas metode *docking* sehingga metode *docking* ini dapat digunakan pada penelitian senyawa uji, kode PDB yang memiliki nilai RMSD kurang dari 2 yaitu 1FBZ dan 2QCF dengan masing-masing nilai RMSD-nya yaitu 1,8 dan 1,1 (Gambar 3a dan Gambar 3b). Semakin kecil nilai RMSD artinya posisi ligan *copy* semakin dekat dengan ligan aslinya sehingga akan semakin baik pula metode yang digunakan. Pada kode PDB 1DAN, 2CAN, 1O4A, dan 1B55 tidak dapat menghasilkan *output* ketika proses *running*, sehingga metode ini dianggap tidak mampu men-*docking*-kan ligan asli terhadap reseptor yang telah diuji secara eksperimental dengan ligan *copy*-nya.

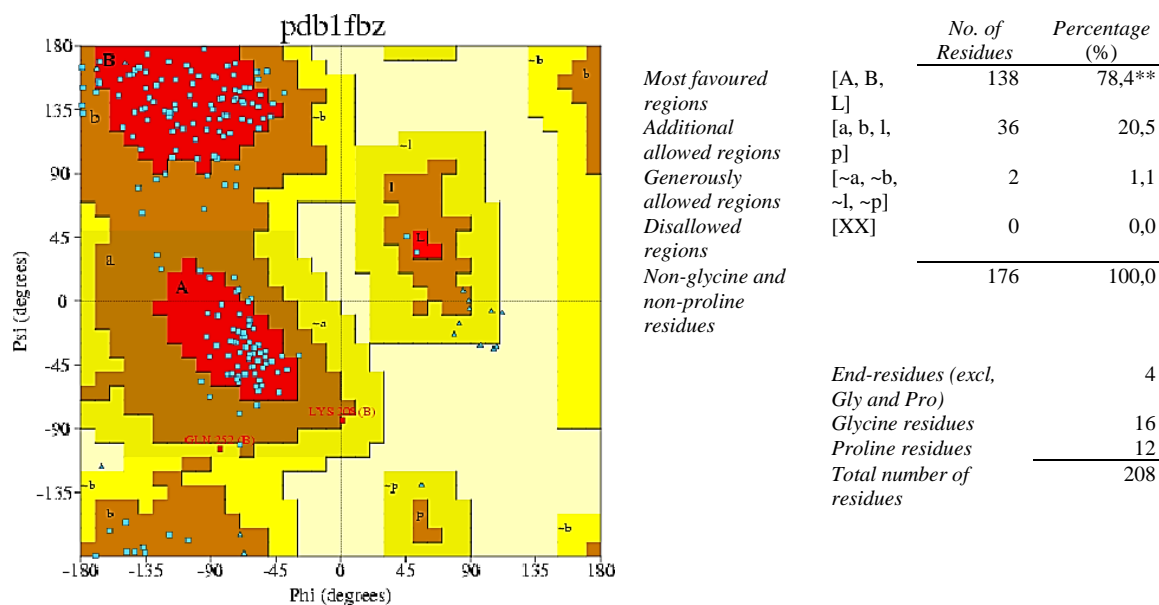


Gambar 3. (a) perbandingan Konformasi CC1 (putih) dengan *Ligan Copy* (merah) (1FBZ) (b) Perbandingan Konformasi 5FU (putih) dengan *Ligan Copy* (merah) (2QCF).

Analisis Protein Target

Analisis protein dilakukan pada protein target yang tervalidasi pada proses validasi *docking*, yaitu pada protein 1FBZ dan 2QCF, analisis protein target ini dilakukan untuk mengetahui status struktur 3D protein dari hasil kristalografi X-ray atau NMR, Melalui plot Ramachandran dapat diketahui suatu struktur protein mempunyai kualitas yang baik atau tidak,

Berdasarkan hasil pengamatan (Gambar 4), protein target atau *PDB ID* 1FBZ memiliki struktur protein yang baik, melihat dari plot residu yang terdapat pada *disallowed regions* [X,X] adalah kurang dari 0,8%, yaitu 0,0%.

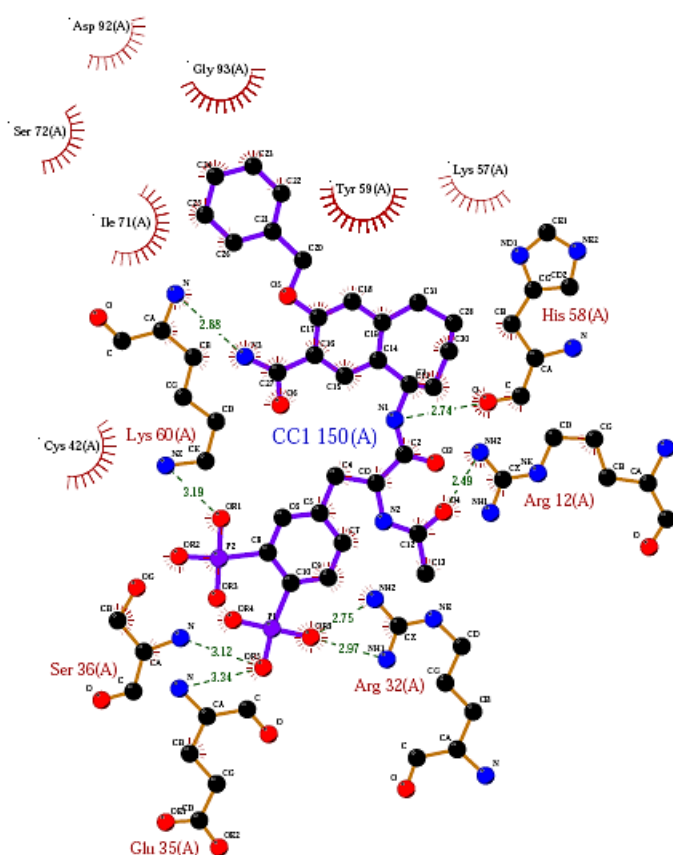


Gambar 4. Ramachandran Plot PDB 1FBZ.

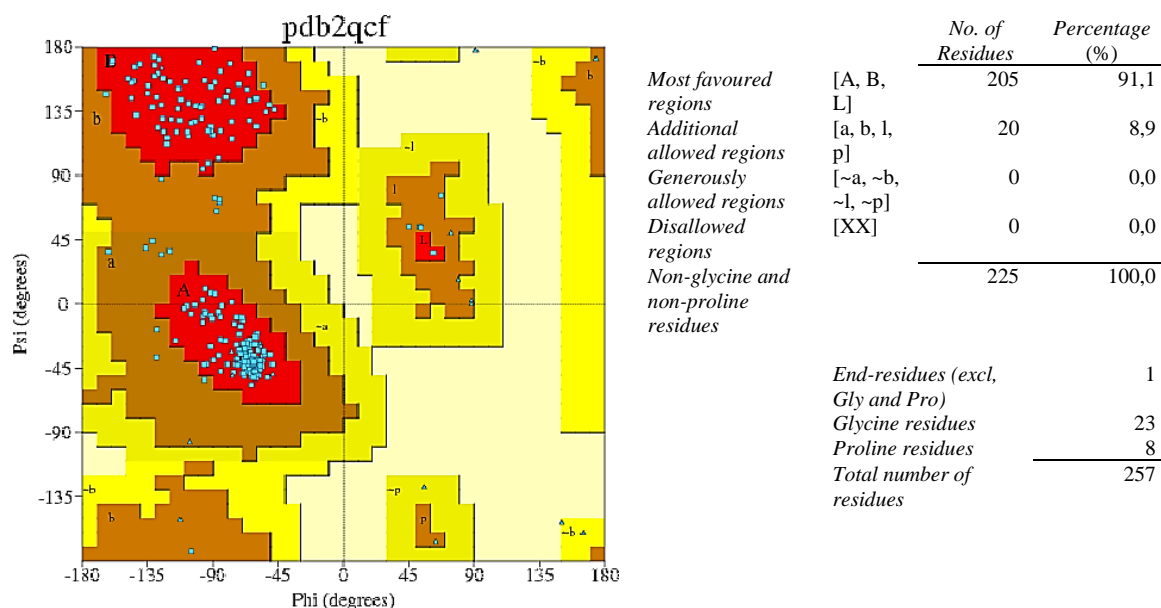
Identifikasi *active site* atau sisi aktif dari informasi *sequence* untuk protein target 1FBZ dapat dilihat dari interaksi dengan residu asam amino, yang dapat dilihat pada Gambar

5. Sisi aktifnya yaitu membentuk ikatan hidrogen dengan residu asam amino *Arg 12*, *Arg 32*, *Glu 35*, *Ser 36*, *His 58*, *Lys 60* dan interaksi hidrofobik dengan *Cys 42*, *Lys 57*, *Tyr 59*, *Ile 71*, *Ser 72*, *Asp 92*, *Gly 93*.

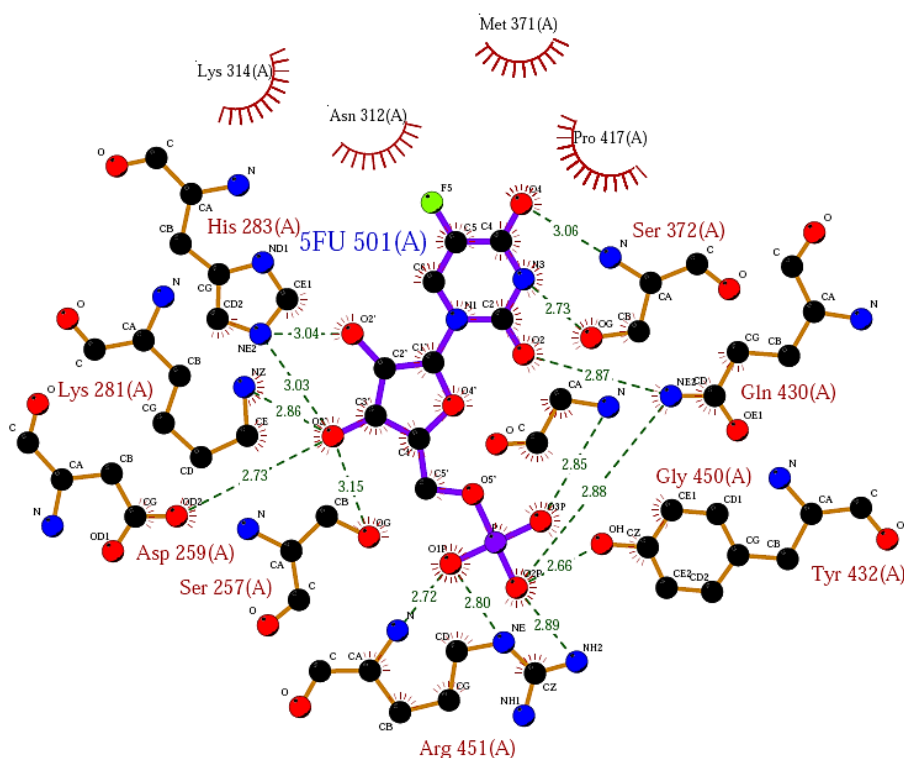
Protein target atau *PDB ID 2QCF* memiliki struktur protein yang baik dilihat dari plot residu yang terdapat pada *disallowed regions* [X,X] adalah kurang dari 0,8%, yaitu 0,0%. Hasil lebih jelas dapat dilihat pada Gambar 6. 11 Identifikasi *active site* atau sisi aktif dari informasi *sequence* untuk protein target 2QCF dapat dilihat dari interaksi dengan residu asam amino, yang dapat dilihat pada Gambar 7. Membentuk ikatan hidrogen yaitu dengan residu *Ser 257*, *Asp 259*, *Lys 281*, *His 283*, *Ser 372*, *Gln 430*, *Tyr 432*, *Gly 450*, *Arg 451* dan interaksi hidrofobik dengan *Asn 312*, *Lys 314*, *Met 371*, *Pro 417*.



Gambar 5. *Active Site* Protein 1FBZ.



Gambar 6. Ramachandran Plot PDB 2QCF.



Gambar 7. Active Site Protein 2QCF.

Hasil Docking Ligan Uji dan Visualisasi Interaksi terhadap Protein Target

Tahap selanjutnya yaitu *docking*-kan kuersetin dan senyawa pembanding yang merupakan senyawa obat antikanker yang ada dipasaran terhadap protein target yaitu 1FBZ dan 2QCF. Pemilihan pembanding yaitu senyawa yang mekanisme kerjanya sama pada

protein target hasil validasi yaitu *proto-oncogene tyrosine-protein kinase* (1FBZ) dan *uridine 5-monophosphat synthase* (2QCF). Hasil *docking* ligan ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil *Docking* Ligan Uji pada Reseptor 1FBZ.

Senyawa	Energi Ikatan (ΔG)
Senyawa alami	-12,5335 kkal/mol
Kuersetin	-8,21161 kkal/mol
Dasatinib	-7,21342 kkal/mol
Imatinib	-8,24417 kkal/mol
Nilotinib	-9,23438 kkal/mol

Berdasarkan hasil *docking* antara ligan dengan reseptor (Tabel 3) diperoleh konformasi ligan dengan energi terkecil. Pada reseptor 1FBZ, nilai ΔG senyawa kuersetin adalah -8,21161 kkal/mol dan nilai ΔG senyawa pembanding alami adalah -12,5335 kkal/mol. Nilai ΔG senyawa pembanding antikanker yang ada dipasaran, yaitu dasatinib, imatinib, dan nilotinib masing-masing adalah -7,21342 kkal/mol; -8,24417 kkal/mol; -9,23438 kkal/mol. Nilai ΔG kuersetin bila dibandingkan dengan senyawa pembanding maka dapat dilihat bahwa kuersetin interaksinya lebih baik dari pada senyawa obat antikanker yang ada dipasaran yaitu Dasatinib. Obat pembanding tersebut merupakan obat yang telah di setujui oleh FDA yang penggunaannya sebagai antikanker. Dasatinib merupakan inhibitor oral beberapa kinase dan telah disetujui penggunaannya pada terapi LMK dan leukemia limfoblastik akut (Katzung *and* Bertram, 2010).

Kuersetin dimungkinkan memiliki aktifitas sebagai antikanker melalui penghambatan aktivasi abnormal protein tirosin kinase walaupun kuersetin tidak memiliki kemiripan struktur dengan molekul dasatinib, tetapi memiliki kemiripan secara stereokimia dan dapat berinteraksi secara selektif hanya dengan reseptornya. Berdasarkan visualisasi kompleks ligan-protein maka akan terlihat interaksi antara gugus fungsi ligan dengan residu asam amino pada reseptor.

Berdasarkan data (Tabel 4) senyawa alami pada reseptor 1FBZ berinteraksi membentuk ikatan hidrogen dengan residu *Arg 12, Arg 32, Glu 35, Ser 36, His 58, Lys 60* dan jumlah ikatan hidrogen yang terbentuk yaitu sebanyak 8. Selain ikatan hidrogen, beberapa jenis interaksi lain yang turut berkontribusi terhadap pengikatan senyawa alami pada reseptor yaitu salah satunya adalah kontak dengan bagian hidrofobik. Kontak hidrofobik yang terbentuk yaitu dengan residu *Cys 42, Lys 57, Tyr 59, Ile 71, Ser 72, Asp 92*, dan *Gly 93*. Gambar lebih jelas dapat dilihat pada Gambar 5.

Tabel 4. Hasil Visualisasi Interaksi *Ligan* pada Reseptor 1FBZ.

Senyawa	Jumlah Ikatan Hidrogen	Jarak (Å)	Asam amino yang berikatan	Nomor atom senyawa uji yang berikatan	Nomor atom asam amino yang berikatan	Kontak dengan bagian hidrofobik
Senyawa alami	8	2,49	Arg 12	O4	NH2	Cys 42, Lys 57, Tyr 59, Ile 71, Ser 72, Asp 92, Gly 93
		2,74	His 58	N1	O	
		2,75	Arg 32	OR6	NH2	
		2,88	Lys 60	N3	N	
		2,97	Arg 32	OR6	NH1	
		3,12	Ser 36	OR5	N	
		3,19	Lys 60	OR1	NZ	
		3,34	Glu 35	OR5	N	
Kuersetin	1	3,00	Lys 60	O7	N	Tyr 59, Ile 71, Ser 72, Tyr 87, Asp92, Gly 93, Leu 94
Dasatinib	0	-	-	-	-	Thr 37, Tyr 59, Lys 60, Arg 62, Ile 71, Gly 93, Leu 94

Interaksi yang membentuk ikatan hidrogen pada kuersetin yaitu dengan residu *Lys 60* dan jumlah ikatan hidrogen yang terbentuk yaitu sebanyak 1. Kontak hidrofobik yang terbentuk yaitu dengan residu *Tyr 59, Ile 71, Ser 72, Tyr 87, Asp92, Gly 93*, dan *Leu 94*. Sedangkan interaksi yang sesuai dengan *binding site* reseptor yaitu berikatan dengan residu *Lys 60* membentuk ikatan hidrogen berjumlah 1 dan jenis interaksi lainnya yaitu kontak bagian hidrofobik yaitu dengan *Tyr 59, Ile 71, Ser 72, Asp 92*, dan *Gly 93*. Sedangkan pada senyawa Dasatinib interaksi yang terbentuk yaitu kontak dengan bagian hidrofobik yaitu residu *Thr 37, Tyr 59, Lys 60, Arg 62, Ile 71, Gly 93*, dan *Leu 94*. Sedangkan interaksi yang sesuai dengan *bindingsite* reseptor hanya terdapat pada kontak dengan bagian hidrofobik yaitu *Tyr 59, Ile 71*, dan *Gly 93*. Dilihat dari jumlah interaksi yang terbentuk dapat membuktikan kenapa nilai ΔG kuersetin lebih kecil dibandingkan dengan Dasatinib.

Reseptor 2QCF kuersetin tidak dibandingkan dengan obat antikanker yang ada dipasaran, karena belum ditemukannya obat antikanker yang secara spesifik bekerja

langsung pada *uridine 5-monophosphat synthase* dan bila dibandingkan dengan senyawa pembanding alaminya dapat dilihat bahwa nilai energi ΔG senyawa pembanding lebih kecil dari pada kuersetin.

Berdasarkan data (Tabel 5) nilai ΔG senyawa kuersetin adalah -8,28617 kkal/mol, nilai ΔG senyawa pembanding alami adalah -9,7768 kkal/mol, yang berarti kuersetin interaksinya lebih rendah dari senyawa pembandingnya. Namun, walaupun nilai ΔG kuersetin lebih besar tapi kuersetin memiliki aktivitas pada reseptor tersebut karena mampu menempati active binding site reseptor *uridine 5-monophosphat synthase*. Dengan memvisualisasikan kompleks *ligan-protein* maka akan terlihat interaksi antara gugus fungsi ligan dengan residu asam amino pada reseptor.

Tabel 5. Hasil *Docking Ligan Uji* pada Reseptor 2QCF.

Senyawa	Energi Ikatan (ΔG)
Senyawa alami (5FU)	-9,77680 kkal/mol
Kuersetin	-8,28617 kkal/mol

Berdasarkan data Tabel 6 dapat dijelaskan bahwa senyawa alami (5FU) pada reseptor 2QCF berinteraksi pada *bindingsite*-nya, berinteraksi membentuk ikatan hidrogen dengan residu *Ser 257, Asp 259, Lys 281, His 283, Ser 372, Gln 430, Tyr 432, Gly 450, Arg 451* dan jumlah ikatan hidrogen yang terbentuk yaitu sebanyak 14. Selain dari ikatan hidrogen, beberapa jenis interaksi lain yang turut berkontribusi terhadap pengikatan senyawa alami pada reseptor salah satunya yaitu kontak dengan bagian hidrofobik. Kontak hidrofobik yang terbentuk yaitu dengan residu *Asn 312, Lys 314, Met 371, Pro 417*. Gambar lebih jelas dapat dilihat pada Gambar 7.

Tabel 6. Hasil Visualisasi Interaksi *Ligan* pada Reseptor 2QCF.

Senyawa	Jumlah Ikatan Hidrogen	Jarak (Å)	Asam amino yang berikatan	Nomor atom senyawa uji yang berikatan	Nomor atom asam amino yang berikatan	Kontak dengan bagian hidrofobik
Senyawa alami (5FU)	14	2,66	Tyr 432	O2P	OH	Asn 312, Lys 314, Met 371, Pro 417
		2,72	Arg 451	O1P	N	
		2,73	Asp 259	O3	OD2	
		2,73	Ser 372	N3	OG	
		2,80	Arg 451	O1P	NE	
		2,85	Gly 450	O3P	N	
		2,86	Lys 281	O3	NZ	
		2,87	Gln 430	O2	NE2	
		2,88	Gln 430	O2P	NE2	
		2,89	Arg 451	O2P	NH2	
		3,03	His 283	O3	NE2	
		3,04	His 283	O2	NE2	
		3,06	Ser 372	O4	N	
		3,15	Ser 257	O3	OG	
Kuersetin	8	2,70	Gln 430	O3	NE2	Ser 257, Asp 259, Lys 281, Phe 310, Asn 312, Lys 314, Met 371, Ile 401, Pro 417, Ile 448
		2,77	Arg 451	O4	NH2	
		2,88	Arg 451	O5	N	
		2,88	Tyr 432	O4	OH	
		2,95	Asn 341	O7	ND2	
		2,98	Gly 450	O5	N	
		3,17	Ser 372	O3	OG	
3,26	Ser 372	O2	OG			

Pada kuersetin, interaksi yang membentuk ikatan hidrogen yaitu dengan residu *Asn 341, Gln 430, Tyr 432, Ser 372, Gly 450, dan Arg 451* dan jumlah ikatan hidrogen yang terbentuk yaitu sebanyak 8. Kontak hidrofobik yang terbentuk yaitu dengan residu *Ser 257, Asp 259, Lys 281, Phe 310, Asn 312, Lys 314, Met 371, Ile 401, Pro 417, dan Ile 448*. Sedangkan yang sesuai dengan *bindingsite* dari reseptor yaitu berikatan dengan residu *Ser 372, Gln 430, Tyr 432, Gly 450, Arg 451* membentuk ikatan hidrogen berjumlah 7 dan kontak bagian hidrofobik dengan *Asn 312, Lys 314, Met 371, Pro 417*.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil identifikasi protein target dan validasi *docking* senyawa kuersetin memiliki aktivitas pada reseptor enzim proto-onkogen protein-tirosin kinase dan uridin 5-monofosfat sintase dan berdasarkan nilai energi bebas (ΔG) dari hasil *docking* dapat disimpulkan kuersetin memiliki aktivitas terbaik pada protein target reseptor uridin 5-monofosfat sintase dengan nilai energi *binding affinity* sebesar -8,28617 kkal/mol dan berinteraksi dengan residu asam amino yang sesuai dengan *active site* dari protein target

reseptor uridin 5-monofosfat sintase yaitu membentuk 2 ikatan hidrogen dengan residu *Tyr 432* dan *Gly 450* dan kontak bagian hidrofobik dengan residu *Asn 312*, *Met 371*, *pro 417*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Kami ucapkan terima kasih kepada STIKes Bakti Tunas Husada Tasikmalaya yang telah mengizinkan kami menggunakan laboratorium komputasi untuk penyelesaian penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Adawiyah, R., and Artika, I.M., 2016. Histone Acetyltransferase P300/CBP-Associated Factor Inhibition by Quercetin as Anticancer Drug Candidate with In Silico and In Vitro Approach. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 8(5), 1–5.
- Adelin, T., Frengki, and Dwinna, A., 2013. Penambatan Molekuler Kurkumin dan Analognya Pada Enzim Siklooksigenase-2. *Jurnal Medika Veterinaria* 7(1), 0853-1943.
- Agistia, Purnomo, H., Tegar, M., and Nugroho A.E., 2013, Interaksi Senyawa Aktif dari *Aegle marmelos* Correa, sebagai Anti Inflamasi dengan Reseptor COX-1 dan COX-2. *Traditional Medicine Journal* 18(2).
- Baghel, S.S., Shrivastava, N., and Baghel, R.S., 2012, A Review of Quercetin : Antioxidant and Anticancer Properties. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 1(1), 146-160.
- Chimiche, S., Borsari, V.L., Applicata, B., Luciano, P., Applicata, B., Luciano, P., and Sacchetti, G., 2017. Research Progress in the Modification of Quercetin Leading to Anticancer Agents. *Molecules* 22(8), 1-27.
- Drie, Van, 2007. Monty Kier and the Origin of the Pharmacophore Concept" (PDF), *Internet Electronic Journal of Molecular Design* 6, 271–279.
- Gunasekaran, Ramakrishnan and Balaram, 1996. Disallowed Ramachandran Conformations of Amino Acid Residues in Protein Structures. *Journal of Molecular Biology* 264, 191 – 198.
- <http://www.depkes.go.id/>, Data Kanker, [Diakses pada tanggal 27 Februari 2016, jam 14,15 WIB].
- Hashemzaei, M., Far, A.D., Yari, A., Heravi, R.E., Tabrizian, K., Taghdisi, S.M., and Kouretas, D., 2017. Anticancer and Apoptosis - Inducing Effects of Quercetin In Vitro and In Vivo. *Oncology Reports* 38, 819–828.
- Ikawati, M., Andy, E.W., Navista, S.O., and Rosa, A., 2008. Pemanfaatan Benalu sebagai Antikanker. *Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada*. Yogyakarta.
- Katzung and Bertram G., 2010. Farmakologi Dasar & Klinik/Alih Bahasa, Aryandhito Widhoi Nugroho, Leo Rendy, Linda Dwijayanthi; editor bahasa Indonesia, Windriya Kerta Nirmala [*et al.*],-Ed, 10, Jakarta :EGC, pp. 927.

- Liu, X., Ouyang, S., Yu, B., Huang, K., and Liu, Y., 2010. PharmMapper Server: a Web Server for Potential Drug Target Identification Via Pharmacophore Mapping Approach, *Nucleic Acids Research* 38
- Pebriana, R.B., Romadhon, and Yunanto, 2008. Docking Kurkumin dan Senyawa Analognya pada Reseptor Progesteron: Studi Interaksinya sebagai Selective Progesterone Receptor Modulator (SPRMSs). *PHARMACON* 9(1), 14–20.
- Priya, E.S., Selvakumar, K., Bavithra, S., Elumalai, P., Arunkumar, R., Singh, P.R., and Arunakaran, J., 2013. Anti-cancer Activity of Quercetin in Neuroblastoma : an in vitro Approach. *Neurological Sciences* 35, 163.
- Purnomo, 2013. *Kimia Komputasi: Molekular Docking Plants [Protein-Ligan-Ant-System]*. Yogyakarta: *Pustaka Pelajar*.
- Ruswanto, 2015. Molecular Docking Empat Turunan Isonicotinohydrazide pada Myobacterium Tuberculosis Enoyl-Acyl Carrier Protein Reductase (InhA). *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada* 13(1).
- Ruswanto, Mardhiaha, Mardianingrum, R., and Novitriani, K., 2015. Sintesis dan Studi In Silico Senyawa 3-Nitro-N'-[(Pyridin-4-Yl) Carbonyl] Benzohydrazide sebagai Kandidat Antituberkulosis, *Chimica et Natura Acta* 3(2), 54-61.
- Wallace, A.C., Laskowski, R.A., and Thornton, J.M., 1996. LIGPLOT: a Program to Generate Schematic Diagrams of Protein-Ligand Interactions. *Protein engineering* 8, 127-134.