

STUDI *IN SILICO* SENYAWA ALKALOID DARI BUNGA TAPAK DARA (*CATHARANTHUS ROSEUS* (L) G. DON) PADA RESEPTOR ESTROGEN BETA SEBAGAI ANTIKANKER PAYUDARA

STUDY *IN SILICO* COMPOUND OF INTEREST VINCA ALKALOIDS OF (*CATHARANTHUS ROSEUS* (L) G. DON) ESTROGEN RECEPTOR BETA AS ANTICANCER BREAST

Yusransyah^{1*}, Dina Pratiwi², Lia khaerunnisa²

^{1,2,3}Sekolah Tinggi Farmasi Muhammadiyah Tangerang

*Corresponding Author Email : yusransyah@stfm.ac.id

ABSTRAK

Kanker payudara merupakan jenis kanker yang sering ditemui dikalanganwanita dunia. Bunga tapak dara mengandung lima senyawa alkaloid yang bisa menghambat kanker. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi senyawa alkaloid sebagai antikanker payudara pada reseptor estrogen beta. Senyawa uji yang digunakan yaitu lima senyawa alkaloid dari bunga tapakdara (*Catharanthus roseus* (L) G. Don) yaitu, vincristine -6.10 kkal/mol, vinorelbine -7.02 kkal/mol, vinflunine -6,60 kkal/mol, vinblastine -6,44 kkal/mol, vindensine -8,30 kkal/mol, serta senyawa pembanding yaitu estradiol dan genistein. Optimasi geometri menggunakan *hyperchem* dengan metode *semiempirik* (PM3), Reseptor yang digunakan adalah reseptor estrogen beta dengan kode PDB 1QKM. Proses *docking* dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak *Autodock* 4.2.6. Nilai skor *docking* dari lima senyawa alkaloid terhadap reseptor estrogenbeta pada gridbox 126x126x126 yaitu vincristine -6,10 kka/mol, vinblastine -6,44 kka/mol, vindensine -8,30 kka/mol, vinflunine -6.60 kka/mol, vinorelbine -7,02 kkal/mol, estradiol -11,13 kka/mol dan genistein -9.34 kka/mol. Senyawa lima alkaloid diprediksi tidak berpotensi sebagai antikanker pada reseptor estrogen beta.

Kata kunci : Senyawa-senyawa alkaloid, bunga tapak dara, *docking*, 1QKM.

ABSTRACT

Breast cancer is a type of cancer that is often encountered among women world. Contains five flower vinca alkaloids compounds that can inhibit cancer. Aim this study was to determine potential as an anticancer alkaloids breast estrogen receptor beta. Test compounds used is five compounds of interest vinca alkaloids (*Catharanthus roseus* (L) G. Don) is vincristine -6.10 kkal/mol, vinorelbine -7.02 kkal/mol, vinflunine -6,60 kkal/mol, vinblastine -6,44 kkal/mol, vindensine -8,30 kkal/mol, as well as comparative compounds, namely esradiol and genistein. Geometry optimization using *hyperchem* with semi-empirical method (PM3), receptor used is the esrogen receptor beta with 1QKM code. Docking process is done by using software *Autodock*. A score docking of five alkaloids against estrogen receptor beta in gridbox 126x126x126 are vincristine -6.10 kkal/mol, vinorelbine -7.02 kkal/mol, vinflune -6,60 kkal/mol, vinblastine -6,44 kkal/mol, vindensine -8,30 kkal/mol, estradiol -11,13 kka/mol dan genistein -9.34 kka/mol. Five alkaloids compounds predicted no potential as an anticancer estrogen receptor beta.

Keywords : *alkaloids compounds, vinca flowers, docking, 1QKM*

PENDAHULUAN

Kanker payudara merupakan jenis kanker yang sering ditemui dikalangan wanita di dunia. Menurut *Amerika Cancer Society* pada tahun 2013, kanker payudara menempati posisi kedua dengan jumlah 14% dari pada semua jenis kanker diderita oleh kaum wanita (Siegel dkk., 2013).

Dalam proses pengembangan obat, untuk memprediksi kompleks struktur ligan kecil dengan reseptor yang berupa suatu protein dapat digunakan metode *Molecular Docking* (Purnomo, 2013).

Penemuan tanaman obat yang berpotensi sebagai antikanker saat ini dapat menggunakan metode *Molecular Docking*.

Molecular Docking dapat membantu skrining *insilico* untuk memprediksi apakah kandungan kimia bahan aktif dalam tumbuhan tertentu berpotensi sebagai antikanker dengan membandingkan satu senyawa yang sudah diketahui efeknya sebagai antikanker (Purnomo, 2013). Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan studi *in silico* senyawa alkaloid dari bunga tapak dara pada reseptor estrogen beta sebagai antikanker payudara menggunakan metode *docking* PLANTS (*protein-ligand* ANT-system).

Penemuan tanaman obat yang berpotensi sebagai antikanker saat ini dapat menggunakan metode *Molecular docking*. *Molecular docking* dapat membantu skrining *in silico* untuk memprediksi apakah kandungan kimia bahan aktif dalam tumbuhan tertentu berpotensi sebagai antikanker dengan membandingkan dengan satu senyawa yang sudah diketahui efeknya sebagai antikanker (Purnomo, 2013). Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan studi *in silico* senyawa alkaloid dari bunga tapak dara (*Catharanthus roseus* (L.) G. Don) pada reseptor estrogen alfa sebagai antikanker payudara dengan metode *Docking* menggunakan Autodock 4.2.6. AutoDock merupakan program penambatan molekuler yang efektif yang secara cepat dan akurat dapat memprediksi konformasi dan energi dari suatu ikatan antara ligan dan target makromolekul. AutoDock terdiri dari dua program utama, yaitu AutoDock dan Autogrid.

AutoDock melakukan penambatan molekuler ligan protein target dengan sel grid yang telah terdiskripsi. Pendeskripsian ini dilakukan sebelumnya oleh Autogrid. Untuk memungkinkan pencarian konformasi, AutoDock membutuhkan ruang pencarian dalam sistem koordinat di mana ligan dianggap akan terikat (Morris, dkk., 2009).

Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui energi ligan terendah senyawa-senyawa alkaloid dari bunga tapak dara (*Catharanthus roseus*) di situs pengikatan reseptor estrogen beta, Untuk mengetahui energi skor *docking* senyawa-senyawa alkaloid dari bunga tapak dara (*Catharanthus roseus*) terhadap reseptor Estrogen beta, Untuk mengetahui potensi senyawa-senyawa alkaloid dari bunga tapak dara (*Catharanthus roseus*)

dapat berpotensi sebagai antikanker pada reseptor estrogen beta.

Deskripsi Objek Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental yang dilakukan secara *in silico*. Pada penelitian ini dilakukan *docking* senyawa uji vinca alkaloid dari bunga tapak dara (*Catharanthus roseus* (L.) G. Don) dengan reseptor estrogen beta untuk memprediksi kompleks struktur ligan dengan protein tersebut. Kemudian skor hasil *docking* senyawa alkaloid dibandingkan dengan skor *docking* genistein yang merupakan obat antikanker payudara. Jika skor hasil *docking* senyawa alkaloid lebih kecil dibanding genistein maka dapat diprediksi senyawa tersebut lebih poten dibanding alkaloid.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini berupa perangkat keras dan perangkat lunak. Sedangkan bahan yang digunakan yaitu senyawa yang diuji dan senyawa pembanding serta reseptor dalam bentuk protein.

Perangkat Lunak Komputer

Notebook Asus dengan spesifikasi intel (R) Atom (TM) CPU N570 @ 1.66 GHz, RAM 2,00 GB, Windows 7 – UL-PC, 32-bit Operating System.

Senyawa Uji

Senyawa uji yang digunakan yaitu vinca alkaloid dari bunga tapak dara (*Catharanthus roseus* (L.) G. Don) dan genistein sebagai pembanding.

Reseptor

Data struktur 3D kristal reseptor yang digunakan untuk analisis *molecular docking* diperoleh dari *Protein Data Bank* (PDB) dengan situs <http://www.rcsb.org/pdb/>. Reseptor yang digunakan untuk memprediksi aktivitas antikanker payudara yaitu reseptor estrogen beta dengan kode PDB 1QKM.

Metode Penelitian

reseptor yang digunakan. Parameter yang digunakan yaitu *Genetic algorithm* dengan jumlah GA runs sebanyak 10 kali. Satu kali proses *docking* menghasilkan 10 pose

sehingga hasil akhir *docking* diperoleh sebanyak 100 pose.

Preparasi Ligan

Ligan atau senyawa uji asperulosida dan estradiol dibangun menggunakan perangkat lunak *Chem Office 2004 (ChemDraw dan Chem 3D Ultra)*. Kemudian dilakukan optimasi geometri menggunakan *Hyperchem* versi 8.03 dengan metode *Semi Empirik (PM3)*.

Preparasi Reseptor

Reseptor yang digunakan diunduh dari *Protein Data Bank*. Reseptor yang berupa makromolekul protein dipisahkan dari molekul lain yang tidak diperlukan beserta ligannya. Pemisahan dilakukan menggunakan *AutodockTools-1.5.6rc3*. Optimasi dilakukan dengan penambahan atom hidrogen dan *Kollman charges*.

Validasi Metode Docking

Validasi metode *docking* dilakukan dengan metode *redocking* menggunakan ligan ko-kristal yang terdapat pada masing-masing reseptor yang diunduh dari *Protein Data Bank*. Parameter yang digunakan untuk menilai validitas yaitu nilai RMSD yang merupakan nilai simpangan posisi ruang ligan hasil *docking* dibandingkan dengan posisi ligan hasil kristalografi.

Docking Ligan Uji terhadap Reseptor

Pengaturan *grid box parameter* dilakukan menggunakan *AutodockTools-1.5.6rc3*. Dimensi ditentukan berdasarkan ukuran masing-masing ligan dan koordinat *grid box* ditentukan berdasarkan koordinat ligan ko-kristal dari file

HASIL DAN PEMBAHASAN

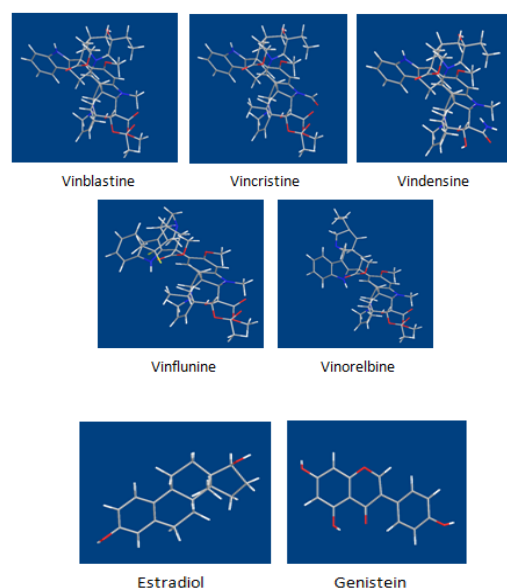
Penyiapan makromolekul protein

Reseptor estrogen- β (ER- β) merupakan faktor penting dalam penghambatan dan invasi terhadap sel kanker payudara. Reseptor estrogen- β yang terkompleks dengan genistein seringkali dijadikan model target terhadap aksi obat. Langkah awal sebelum melakukan proses penambatan molekul adalah penyiapan makromolekul protein dan ligan yang akan digunakan. Pada tahap penyiapan reseptor, struktur makromolekul yang digunakan

diunduh dari protein data bank dengan situs <http://www.rscb.org/>. Identitas reseptor estrogen Beta yang dipilih adalah 1QKM. Makromolekul tersebut kemudian dioptimasi dengan *Autodocktools*. Pengoptimasian ini dilakukan agar makromolekul dapat menyesuaikan dengan adanya lingkungan yaitu penambahan atom hidrogen dan pengaturan *grid box* parameter. Parameter *grid box* meliputi koordinat x, y dan z untuk mengatur letak parameter *box* pada makromolekul protein. Ukuran x, y, z dan *spacing* (angstrom) untuk menentukan besar kecilnya *grid box* ruang penambatan ligan tersebut. Hasil pengaturan yang diperoleh yaitu center-x = 22.333, center-y = 8.098, center-z = 113.228 dan spacing 0,375 Å.

Penyiapan Ligan

Ligan yang akan digunakan diunduh dari Pubchem dengan situs <http://PubChem.ncbi.nlm.nih.gov> dengan format.sdf dan dipilih struktur 2D menggunakan program *Chemdraw Ultra 8.0* dengan format .cdk. Kemudian diubah menjadi struktur 3D menggunakan program *Chem3D Ultra* dengan format .mol. Ligan-ligan yang digunakan pada penelitian ini adalah senyawa-senyawa alkaloid dari bunga tapak dara yaitu Vinblastine, vincristine, vindensine, vinflunine, vinorelbine. Ligan pembanding yang digunakan yaitu genistein sebagai ligan bawaan reseptor 1QKM dan estradiol sebagai ligan alami reseptor estrogen beta.

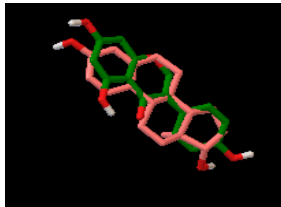


Gambar Struktur 3D Senyawa- Senyawa Alkaloid dan Senyawa Pembanding

Optimasi geometri dilakukan menggunakan metode *Semi Empirik* PM3 dengan program *Hyperchem*. Dilakukan tujuan optimasi geometri untuk memperbaiki struktur dan untuk menghasilkan energi terendah. kemudian format ligan-ligan tersebut diubah menjadi .pdb dengan menggunakan Open Babel agar dapat dibaca dengan *Autodock* untuk selanjutnya dilakukan pengoptimasian ligan. Dalam pengoptimasian ligan, dilakukan penambahan muatan *gasteiger* dan pengaturan *set number of torsion* dengan menggunakan *Autodocktools*

Validasi Metode Docking

Validasi metode docking dilakukan dengan metode redocking yaitu mendocking kembali ligan bawaan (genistein) terhadap reseptor estrogen beta. Pada validasi metode *docking* dilakukan dengan *Autodocktools*. Validasi ini dilakukan terhadap ligan valid dan hasil *docking*. Parameter yang digunakan yaitu parameter *Root Mean Square Deviation* (RMSD). Hasil redocking yang diperoleh nilai RMSD 1,625 Å nilai RMSD tersebut dinyatakan valid karena telah memenuhi nilai RMSD >2 (Purnomo, 2013)



Gambar Validasi

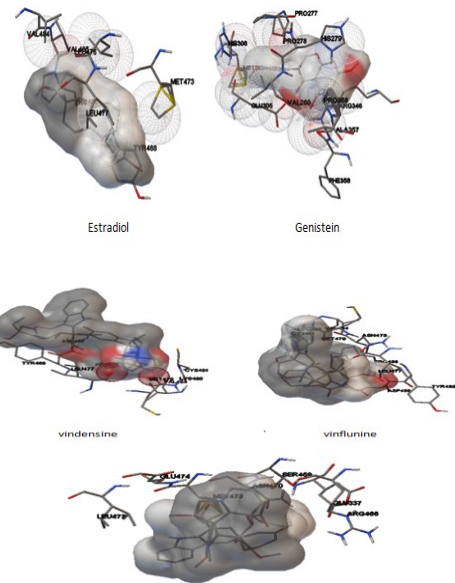
Nilai yang diukur dari RMSD berdasarkan perbedaan jarak atom sejenis. Jarak antara ligan dengan reseptor estrogen beta.

Analisa dan Visualisasi Hasil Docking

Pengujian ligan uji senyawa-senyawa alkaloid dan ligan pembanding yaitu genistein dan estradiol dilakukan melalui proses *docking* terhadap reseptor estrogen beta. Proses *docking* dilakukan menggunakan ukuran *gridbox* 126x126x126 (*blind docking*).

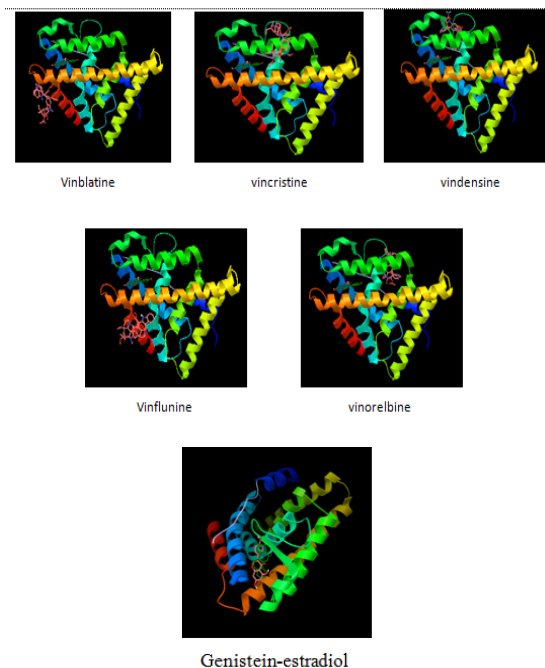
interaksi residu residu asam amino reseptor estrogen beta dengan ligan uji dapat dilihat pada gambar dibawah ini.

Interaksi residu asam amino ligan pembanding



Gambar Interaksi residu asam amino reseptor estrogen beta ligan uji

Hasil *docking* kelima senyawa walaupun memiliki energi yang rendah dan nilainya mendekati ligan pembanding namun posisi interaksi ligan uji dan pembanding estradiol berbeda. Seperti yang dapat dilihat pada gambar diatas.



Posisi ligan pada *gridbox* 126x126x126

Pada gambar di atas bahwa posisi reseptor, ligan genistein dan estradiol sama ligannya saling berdekatan, sedangkan dari lima senyawa alkaloid dari bentuk

ligangenistein dan ligan lima senyawa menghasilkan posisi ligan yang berbeda-beda. Hal tersebut menunjukkan bahwa dari lima senyawa alkaloid mempunyai mekanismedan energi ikatannya yang berbeda. Hal ini dapat mempengaruhi terhadap efekterapi yang dihasilkan.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Konformasi energi ligan terendah senyawa-senyawa alkaloid di situs pengikatan reseptor estrogen beta dengan *gridbox* 126x126x126 memiliki posisi yang tidak sama dengan genistein dan etradiol.
2. Hasil energi skor *docking* senyawa-senyawa alkaloid pada reseptor estrogen beta pada *gridbox* 126x126x126 vincristine menghasilkan nilai energi binding -6,10 kkal/mol, vinblastine -6.44 kkal/mol, vindensine -8.30kkal.mol, vinflunine -6.60 kkal/mol, dan vinorelbine -7.02 kkal/mol.
3. Kelima senyawa vinca alkaloid diprediksi tidak berpotensi sebagai antikanker payudara pada estrogen beta.

Daftar Pustaka

Anonimus, 1985. Tanaman Obat Indonesia. Jilid I. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.p. 79.
 Ali, S., Coomber, R.C 2000. Estrogen receptor Beta in human breast cancer: occurrence and significance. Journal od Mammary Gland Biology and Neoplasia. Vol. 5, No.3.

Cordell, G.A., 1981, Introduction to Alkaloid, Awiley-Intrscience Publication, N.Y. Vol. II(2). Hal. 96-99.
 Chung I, Kim E, Lim, Peebles CAM, Jung W. Song H, Ahn J, San K. 2011. Screening 64 Cultivars Catharanthus roseus For the Production Of Vindoline. Catharathine, and Serpetine. Biotechnol. Prog. 27 (4): 937-934
 Miura Y, Hirata K, Kurano N. 1987. Isolation of vinblastine in callus culture with differentiated roots of Catharanthus roseus. Agric. Biol. Chem 51:611-614.
 Motiejunas, D., dan Wade, R. (2006). Structural, Energetics, and Dynamic Aspects of Ligand Receptor Interactions. Vol. 4, Hal. 193-214.
 Morris, G. M., Goodsell, D. S., Pique, M. E., Lindstrom, W. ., " Huey, R., Forli, S., Olson, A. J. (2009). Autodock Version 4.2 : Automed Dolcing of Flexible Ligands to Flexible Receptors. La Jolla, California, U.S.A : The Scripps Research Instute.
 O' Boyle, N. M., Banck, M., James, C.A., Morley, C., Vandermersch, T., dan Hutchison, G. R. (2011). Open Babel : An Open Chemical Toolbox. Journal of Cheminformatics.
 Purnomo, H. 2013. Kimia Kumputasi: Uji In Silico Senyawa Antikanker. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
 Purwaningsih, E., Widayanti, E., Sucianti, Y., 2015, Ethanolic Periwinke Leaf extract Reduces Telomerase Expression in T47D Cancer cells, Universa Medicine. Vol. 34(2). Hal 80-86.