

Studi *In Silico* Interaksi Senyawa Kuersetin Terhadap Reseptor Kanker *Insulin Like Growth Factor 1 (Igrf-1)*

In Silico Study Of Quercetin Compounds Interaction On Cancer Receptors *Insulin Like Growth Factor 1 (Igrf-1)*

¹Delvinto Pratama Putra, ²Amir Musadad Miftah, ³Diar Herawati Effendi

Prodi Farmasi, Fakultas Ilmu Pengetahuan Alam dan Matematika

Jl. Tamansari No.1 Bandung 40116

Email: ¹fitoexsample@gmail.com, ²amirmusadamiftah, ³diarherawatieffendi

Abstract. *In silico* study of Quercetin compounds as anticancer and Benzo (α) pyrene as triggers of blood cancer (leukemia) against insulin receptors like growth factor-1 (IGFR-1) were performed using molecular docking method (autodock). Benzo (α) pyrene-IGFR-1 binding is a trigger for the proliferation in leukemia cells so it was treated as target in this study. The purpose of this study was to conduct an *in silico* test by examining the ability of quercetin as a ligand for IGFR-1. To examine the interaction, the bond free energy parameter (ΔG) must be known. Result showed ΔG obtained for quercetin ligand was -6.41. Smaller ΔG (kcal / mol) value indicated more stable ligand-receptor bond, and the interaction occurs spontaneously. Additionally, hydrogen bonds in amino acids must be known, their hydrogen bonds to amino acids PHE A: 25 and GLY A: 30. Whereas the Benzo (α) pyrene ligand is -6.09. To determine the safety of the ligand Toxtree application was used with Cramer Rules parameter. Results showed that benzo (α) pyrene were included in High Class III causes of cancer and Quercetin were included in High Class III in cytotoxic group and Benigni/Bossa rulebase. Benigni/Bossa rulebase toxicity test result showed that Benzo (α) pyrene compounds were included in Structural Alert for genotoxic carcinogenicity and negative for nongenotoxic carcinogenicity. Quercetin was included in the negative for both genotoxic and nongenotoxic carcinogenicity. The results also showed that quercetin ligands had higher activity than benzo (α) pyrene.

Keywords : Quercetin, IGFR-1, Benzo(α)pyrene.

Abstrak. Studi *In Silico* senyawa Kuersetin sebagai antikanker dan Benzo(α)piren sebagai pemicu kanker darah (leukemia) terhadap reseptor *insulin like growth factor-1 (IGFR-1)* dengan metode aplikasi *docking moleculer (autodock)*. Benzo(α)piren berikatan dengan IGFR-1 adalah pemicu proliferasi sel leukemia sehingga dijadikan sebagai target dalam pengobatan ini. Tujuan dari penelitian ini untuk melakukan uji *in silico* dengan memeriksa kemampuan Kuersetin sebagai ligan untuk IGFR-1. Untuk mengetahui interaksinya maka harus diketahui parameter energi bebas ikatan (ΔG), hasil ΔG yang diperoleh untuk ligan Kuersetin - 6.41, semakin kecil nilai ΔG (kkal/mol), semakin stabil ikatan antara ligan-reseptor serta interaksi terjadi secara spontan. Selain itu harus diketahui ikatan hidrogen pada asam amino, ikatan hidrogennya pada asam amino PHE A:25 dan GLY A:30. Sedangkan ligan Benzo(α)piren adalah -6.09. Untuk mengetahui keamanan senyawa ligan menggunakan aplikasi *toxtree* dengan parameter *Cramer Rules*, didapatkan hasil benzo(α)piren termasuk *High Class III* penyebab kanker dan Kuersetin termasuk *High Class III* dalam golongan sitotoksik dan *Benigni/Bossa rulebase*. Hasil uji toksisitas parameter *Benigni/Bossa rulebase* senyawa Benzo(α)piren termasuk ke dalam *Structural Alert for genotoxic carcinogenicity* dan *negatif for non genotoxic carcinogenicity*. Kuersetin termasuk ke dalam *negative for genotoxic* dan *negative for nongenotoxic carsinogenicity*. Hasil menunjukkan bahwa ligan Kuersetin memiliki aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan benzo(α)piren.

Kata Kunci: Kuersetin, IGFR-1, benzo(α)piren.

A. Pendahuluan

Kanker darah (leukemia) adalah kelainan darah ganas yang menyerang sel-sel pembentuk darah muda di sumsum tulang. (Morrison, Candis dan Hesdorffer, Charles S., 2012: 4). Penyebab leukimia yaitu zat karsinogen contohnya senyawa Benzen, pada

leukimia manusia Benzen akan bermutasi diubah menjadi metabolitnya, salah satunya yaitu benzo(α)piren yang dapat berikatan dengan reseptor Insulin-like growth factor (IGF-1) yang ditransportasikan ke seluruh tubuh melalui darah. Salah satu upaya pengobatan Leukimia adalah dengan menstabilkan radikal bebas yang

terbentuk oleh senyawa karsinogen (Ratna *et al.*, 2006). Kuersetin merupakan suatu aglikon flavonoid yang mempunyai gugus polifenol (Mursyidi, 1989), sehingga komponen fenoliknya yang sangat reaktif dapat menstabilkan senyawa dan bertindak sebagai antioksidan. Molekul flavanol yang terdapat pada Benalu teh (*Scurrula atropurpurea* Bl. Dans). Kuersetin memiliki aktivitas antioksidan yang dimungkinkan oleh komponen fenoliknya yang sangat reaktif. Kuersetin dapat menstabilkan radikal bebas yang dibentuk oleh senyawa karsinogen melalui reaksi hidrogenasi maupun bentuk kompleks, melalui reaksi tersebut radikal bebas diubah menjadi bentuk yang stabil sehingga tidak mampu mengoksidasi DNA, melalui reaksi tersebut radikal bebas diubah menjadi bentuk yang lebih stabil sehingga tidak mampu mengoksidasi DNA. Jika telah terjadi mutasi sel, kuersetin dapat menjadi penanda bahwa ada DNA sel yang abnormal (Ratna *et al.*, 2006).

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, maka perumusan masalah dalam penelitian ini sebagai berikut: “Apakah Senyawa Kuersetin dapat berinteraksi dengan reseptor IGF-1 sebagai antikanker *Leukemia* dan . Selanjutnya, tujuan dalam penelitian ini diuraikan dalam pokok-pokok sbb.

1. Untuk melihat interaksi berdasarkan energi bebas ikatan (ΔG) antara benzo(α)piren sebagai pemicu dan kuersetin sebagai antikanker yang di-docking terhadap Reseptor Insulin-like growth factor (IGF-1)
2. untuk melihat tingkat toksisitas dari benzena dan kuersetin secara *in silico*.

B. Landasan Teori

Insulin-like growth factor 1 (IGF-1), juga disebut somatomedin C,

adalah protein yang pada manusia dikodekan oleh gen *IGF1*. IGF-1 atau Insulin growth factor merupakan hormon pertumbuhan yang mendapatkan namanya kerana pada kenyataannya **secara struktur mirip dengan insulin**. IGF merupakan hormone endokrin yang diproduksi oleh hati. Yang utamanya dilakukan adalah mengikat pada reseptor yang disebut **IGF1-R** yang ada di semua sel dan jaringan otot. Ketika ada ikatan antara IGF-1 dan reseptornya maka akan mengaktifasi **jalur sinyal** bagi protein yang berperan dalam metabolisme, pertumbuhan sel (Vanamala *et al.*, 2010).

Mekanisme flavonoid sebagai antikanker dibuktikan dengan kemampuan untuk memodulasi CYP1 (sitokrom P450 1) dan kelompok ABC (*ATP-binding cassette*) protein, terlibat dalam karsinogenesis (Carlos, *et al.* 2014). Flavonoid juga dapat menginduksi apoptosis dan siklus sel serta sebagai jalur sinyal lain yang terlibat dalam pengembangan dan perkembangan kanker (Carlos *et al.*, 2014). Kuersetin sebagai antioksidan dapat mencegah terjadinya oksidasi melalui dua fase. Pada fase pertama, kuersetin mampu menstabilkan radikal bebas yang dibentuk oleh senyawa karsinogen seperti radikal oksigen, peroksida dan superoksida. Kuersetin menstabilkan senyawa-senyawa tersebut melalui reaksi hidrogenasi maupun pembentukan kompleks. Melalui reaksi tersebut radikal bebas diubah menjadi bentuk yang lebih stabil sehingga tidak mampu mengoksidasi DNA. Selain itu, didapatkan turunan radikal antioksidan yang relatif memiliki keadaan yang lebih stabil dibandingkan radikal bebas yang dibentuk senyawa karsinogen tadi. Meskipun demikian radikal kuersetin memiliki energi untuk bereaksi dengan radikal antioksidan lain. Radikal-

radikal antioksidan dari kuersetin dapat saling bereaksi membentuk produk nonradikal. Jika telah terjadi mutasi sel, kuarsetin dapat menjadi penanda bahwa ada DNA sel yang abnormal (Ratna *et al*, 2006)

Taraphdar (2001) menyatakan bahwa kuersetin memiliki kemampuan menginduksi apoptosis sel kanker klon Caco-2 dan HT-29 serta sel kanker leukemia HL-60 dengan cara menstimulasi pelepasan sitokrom C dari mitokondria.

Devehat dkk (2002) membuktikan bahwa Kuersetin merupakan salah satu senyawa aktif yang terkandung dalam *Scurulla atropurpurea*, yang memiliki efek

sitotoksik pada kanker manusia yang berpotensi sebagai regulator negatif onkogen dan regulator positif gen tumor suppressor melalui beberapa mekanisme, yakni menghambat proses sinyal transduksi, memacu cell cycle arrest, apoptosis, atau bahkan menghambat metastasis (Rizali dan Auerkari, 2003)

Secara umum, benzo(α)piren memiliki yang sama dengan sumber senyawa PAH. Senyawa benzo(α)piren dari alam bersumber dari kebakaran hutan, letusan gunung berapi, dan terbakarnya minyak mentah. Sedangkan untuk sumber antropogeniknya berasal dari pembakaran yang tidak sempurna bahan bakar fosil, emisi dan pembakaran batu bara dan industri konversi, pembakaran daging yang tidak sempurna, serta asap dari kendaraan bermotor dan asap rokok (Dalimarta, 2004).

C. Metodologi

Tahap pertama adalah menentukan reseptor leukemia yang berikatan dengan Benzo(α)piren dan kuersetin. Pada penelitian ini dipilih *IGF-1* merupakan reseptor yang menyebabkan kanker darah (*leukimia*)

jika terjadi ekspresi berlebih.

Tahap pertama adalah menentukan reseptor leukemia yang berikatan dengan Benzo(α)piren dan kuersetin. Pada penelitian ini dipilih *IGF-1* merupakan reseptor yang menyebabkan kanker darah (*leukimia*) jika terjadi ekspresi berlebih.

Tahap kedua, struktur Benzo(α)piren dan Kuersetin digambar dengan menggunakan program *ChemDraw Ultra 12.0*. Penyiapan senyawa uji dilakukan dengan membuat model struktur dua dimensi. Kemudian model tersebut dilengkapi dengan atom hidrogen pada setiap atom untuk dibentuk menjadi struktur tiga dimensi dengan menggunakan program *Discovery Studio Visualizer v19.1.0*.

Tahap ketiga, mengunduh data *IGF-1* di Protein Data Bank (PDB) (www.rcsb.org), *IGF-1R* (PDB ID : 1H59). PDB merupakan data arsip dunia mengenai struktur dari makromolekul biologis.

Tahap keempat, melakukan validasi perbandingan nilai pada masing-masing ikatan menggunakan aplikasi *Autodock*. Analisa data perbandingan nilai dinyatakan dengan RMSD (*Rate Mean Square Deviation*). Metode *docking* dinyatakan baik jika nilai $RMSD \leq 2$.

Tahap kelima, melakukan docking antara ligan Benzo(α)piren dan Kuersetin terhadap reseptor target yaitu *IGF-1* (PDB ID : 1H59) menggunakan aplikasi *Autodock* dengan metode *AutoDock4* dan *Autogrid4*.

Tahap keenam, melakukan uji toksisitas antara ligan Benzo(α)piren dan Kurkumin menggunakan aplikasi *Toxtree*.

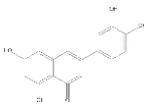
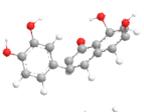
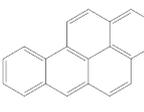
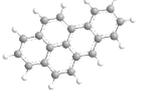
Tahap ketujuh, menganalisis hasil docking yaitu menentukan konformasi kompleks antara ligan dengan reseptor, energi bebas ikatan, residu kontak asam amino dan ikatan hidrogen antara ligan dengan reseptor.

Penentuan untuk konformasi kompleks antara ligan dengan reseptor dilakukan dengan memilih energi ikatan yang paling rendah.

D. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Validasi docking berdasarkan nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*) *position between two similiar groups*. Metode yang digunakan dikatakan valid jika nilai RMSD yang diperoleh ≤ 2 (Thompson, 2004). Berdasarkan hasil validasi ligan asli Benzo(a)piren dan kurkumin terhadap ligan *copy* pada *IGF-1 Receptor* diperoleh nilai RMSD - 5,13132Å. Dari hasil validasi menggunakan metode *Autodock* didapatkan hasil yang valid karena ≤ 2 , maka parameter *docking* yang digunakan sudah memenuhi kriteria validitas metode *docking* sehingga metode ini dapat dipercaya untuk digunakan pada referensi penelitian senyawa uji selanjutnya. Semakin kecil nilai RMSD maka semakin baik metode yang dilakukan.

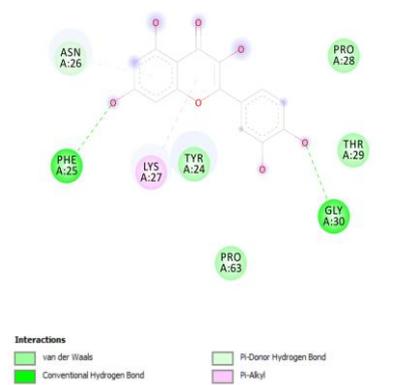
Tabel V.1. Preparasi Senyawa Benzo(a)piren dan Kuersetin

Senyawa	Struktur 2 Dimensi	Struktur 3 Dimensi
Kuersetin		
Benzo(a)piren		

Tabel V.2. Hasil 10 *docking AutoDock* terbaik senyawa Kurkumin dan Benzo(α)piren terhadap *Insulin Growth Factor 1 Receptor*.

ΔG (Kcal/mol) Kuersetin	Ki (μM) Kuersetin	ΔG (Kcal/mol) Benzo(a)piren	Ki (μM) Benzo(a)piren
-6.41	20.1	-6.09	20
-6.34	22.49	-6.09	19.87
-5.95	43.59	-6.06	37.73
-5.93	44.8	-6.04	30.59
-5.93	45.12	-6.03	62.82
-5.77	58.72	-5.71	34.28
-5.72	63.65	-5.69	65.1
-5.68	68.95	-5.68	67.56
-5.65	72.4	-5.58	34.45
-5.65	72.21	-5.58	37.18

Gambar(a). Interaksi antara ligan dan reseptor hasil *docking* program *Autodock*



Dari hasil analisis ikatan hidrogen hasil visualisasi antara ligan dengan reseptor IGF-1 terlihat bahwa terdapat satu interaksi ikatan hidrogen pada senyawa kuersetin yang ditandai dengan garis putus-putus berwarna hijau dengan keterangan *conventional hydrogen bond* yang berikatan dengan gugus hidroksil (-OH) pada kuersetin, ikatan hidrogen tersebut terbentuk pada asam amino PHE A:25 dan GLY A:30.

Dari proses *docking* akan diperoleh energi bebas Gibbs (ΔG) atau energi bebas ikatan yang merupakan

parameter kestabilan konformasi antara ligan dengan reseptor androgen. Secara termodinamika, interaksi ligan dan protein dapat terjadi apabila kompleks yang dihasilkan memiliki nilai $\Delta G < 0$. Docking senyawa ligan terhadap reseptor IGF-1 didapat hasil energi bebas ikatan yang paling negatif pada interaksi senyawa benzo(a)piren yang hanya terjadi pada run ke-6 sebesar -6,09 kcal/mol, dan energi bebas ikatan paling negatif pada interaksi senyawa kuersetin sebesar -6.41 kcal/mol. Berdasarkan parameter *Lipinski's Rules Of Five* yang menjelaskan aturan praktis untuk mengevaluasi keserupaan obat atau menentukan apakah suatu senyawa kimia dengan aktivitas farmakologis atau biologis tertentu memiliki sifat kimia dan sifat fisik yang akan menjadikannya obat yang kemungkinan aktif secara oral pada manusia. Aturan ini penting untuk diingat selama penemuan obat ketika struktur timbal aktif secara farmakologis dioptimalkan langkah-bijaksana untuk meningkatkan aktivitas dan selektivitas senyawa serta untuk memastikan sifat fisikokimia seperti obat dipertahankan seperti yang dijelaskan oleh aturan Lipinski. Aturan Lipinski menyatakan bahwa, secara umum, obat yang aktif secara oral tidak memiliki lebih dari satu pelanggaran terhadap kriteria berikut :

1. Tidak lebih dari 5 donor ikatan hidrogen (jumlah total ikatan nitrogen - hidrogen dan oksigen - hidrogen)
2. Tidak lebih dari 10 akseptor ikatan hidrogen (semua atom nitrogen dan oksigen)
3. Massa molekul kurang dari 500 dalton
4. Koefisien partisi oktanol-air ($\log P$) tidak lebih besar dari 5
5. Energi bebas ikatan (ΔG) < 0

Tabel V.3. Hasil analisis Parameter *Lipinski's Rule Of Five* dari senyawa Kuersetin dan Benzo(a)piren

Senyawa	ΔG (Kjal/mol)	massa	LogP	Donor IH	Akseptor IH
Kuersetin	-6.41	302,236 g/mol	2.5	2	7
Benzo(a)piren	-6.09	78.11 g/mol	2.13	0	0

Dari hasil analisis yang didapat dari **Tabel V.3**, untuk senyawa kuersetin sebagai sitotoksik telah memenuhi syarat aturan *Lipinski's Rule Of Five*. Sehingga ligan kuersetin berpotensi sebagai selective inhibitor of the Bcr-Abl tyrosine kinase bagi aktivitas reseptor IGF-1 untuk menghambat kanker darah (*leukemia*).

Pada parameter *Cramer Rules*, senyawa Benzo(a)piren termasuk ke dalam kelas 3 *High* (Class III) yang artinya menyatakan bahwa tingkatan toksisitasnya menunjukkan paling tinggi dari parameter yang ada pada *Cramer Rules* bahkan memungkinkan memiliki toksisitas yang signifikan dan diperkirakan senyawa ini tidak terjamin keamanannya dalam konsentrasi yang tinggi dalam penggunaannya. Pada senyawa Kuersetin juga termasuk ke dalam kelas 3 *High* (Class III) yang artinya dengan konsentrasi yang tinggi dari senyawa ini tidak dijamin keamanannya. 3 *High* (Class III) menyebutkan bahwa substansi dari struktur kimia ini dari segi keamanannya memberikan pengaruh awal yang tidak terlalu kuat. Obat kanker adalah obat yang memiliki indeks terapi yang sangat sempit baik dari efektifitas dan keamanannya. Menggunakan dosis yang terlalu kecil akan menjadi tidak efektif untuk mengobati kanker dan menggunakan dosis yang terlalu tinggi justru akan menyebabkan efek samping yang dapat

mengancam jiwa.

Karena inilah Kuersetin termasuk kedalam kelas 3 *High* (Class III), kuersetin sebagai sitotoksik dapat berbahaya keamanannya jika dosis yang digunakan melebihi indeks terapinya. Sedangkan Benzo(a)piren termasuk kedalam kelas 3 *High* (Class III) sebagai senyawa karsinogen yang keamanannya telah terbukti sangat berbahaya karena memiliki toksisitas yang signifikan.

Pada parameter *Benigni/Bossa rulebase (for mutagenecity and carcinogenicity)*, senyawa Benzo(a)piren termasuk ke dalam *Structural Alert for genotoxic carcinogenicity* dan *negative for nongenotoxic carcinogenicity* yang artinya senyawa ini memiliki peringatan untuk karsinogen genotoksik dan negatif untuk karsinogen non-genotoksik. Sedangkan senyawa Kuersetin termasuk ke dalam *negative for genotoxic carcinogenicity* dan *negative for nongenotoxic carcinogenicity* yang artinya senyawa ini negatif untuk karsinogen genotoksik dan non-genotoksik.

E. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian *docking* antara senyawa ligan Kuersetin dan Benzo(α)piren terhadap reseptor IGF-1, dapat ditarik kesimpulan bahwa Interaksi senyawa Kuersetin terhadap reseptor IGF-1 membentuk ikatan hidrogen pada asam amino PHE A:25 dan GLY A:30 dengan energi ikatan -6,41 Kkal/mol. Sedangkan ikatan antara senyawa Benzo(α)piren terhadap reseptor IGF-1 membentuk ikatan van der Waals menghasilkan energi ikatan -6,09 Kkal/mol. Sehingga ikatan antara Kuersetin dan reseptor IGF-1 dihasilkan lebih kuat.

Hasil uji toksisitas yang dilakukan pada parameter *Cramer Rules*, senyawa Benzo(α)piren termasuk ke dalam kelas *High Class III* penyebab kanker. Sedangkan Kuersetin termasuk ke dalam kelas *High Class III* dalam golongan sitotoksik. Hasil uji toksisitas pada parameter *Benigni/Bossa rulebase (for mutagenecity and carcinogenicity)*, senyawa Benzo(α)piren termasuk ke dalam *Structural Alert for genotoxic carcinogenicity* dan *negative for nongenotoxic carcinogenicity*. Sedangkan senyawa Kuersetin termasuk ke dalam *negative for genotoxic* dan *negative for nongenotoxic carcinogenicity*.

Penulis menyarankan untuk melakukan penelitian selanjutnya menggunakan software Microsoft® Visual Basic 6.0® atau secara *in vitro* menggunakan hewan uji ataupun sel kanker untuk membuktikan aktivitas senyawa Kuersetin sebagai Anti kanker Leukemia

Daftar Pustaka

- Carlos et al. 2014. Novel Flavonoids As Anti-Cancer Agents: Mechanisms Of Action And Promise For Their Potential Application In Breast Cancer. *Biochemical Society Transactions*. Volume 42: 1017–1023.
- Dalimartha, Setiawan. 2004. Deteksi Dini Kanker & Simplisia Antikanker. Jakarta: Penebar Swadaya Jakarta.
- Morrison, Candis & Hesdorffer, Charles S. (2012). *Patients' Guide to Leukemia (Panduan untuk Penderita Leukemia)*. Penerjemah: Cisya Dewantara. Jakarta: PT Indeks.
- Mursyidi, A. 1990. Analisis Metabolit

- Sekunder. Pusat Antar Universitas UGM. Yogyakarta, hal : 1-4.
- Ratna SM, Roostantia I, Teguh Wahjudi M, Lazuardi M, 2006. Sigi Kandungan Asam Amino Ekstrak Daun Benalu Duku (Loranthaceae *Dendrophthoe Spec*). Laporan Penelitian DIPA PNBPN Tahun 2006. Surabaya : Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat. Universitas Airlangga.
- Rizali, E., dan Auerkari, E. I., 2003, Teknik Pewarnaan Silver (AgNOR) Sebagai Salah Satu Cara Menentukan Aktivitas Proliferasi sel Tumor dan Apoptosis, *Jurnal Kedokteran Gigi Indonesia*, Yogyakarta 10(3): 41-45
- Vanamala J, Tarver CC, Murano PS: Obesity-enhanced colon cancer: functional food compounds and their mechanisms of action. *Curr Cancer Drug Targets*. 2008, 8: 611-633.10.2174/156800908786241087.