

Interaksi Senyawa Taxifolin dari Buah Kasturi (*Mangifera casturi*) sebagai Antikanker Payudara: Evaluasi Docking Molekular

Rabiatul Adawiyah, Noer Komari*

Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lambung Mangkurat, Indonesia

*e-mail korespondensi: nkomari@ulm.ac.id

Submitted: 26 November 2021; Accepted: 28 November 2021

ABSTRACT—Taxifolin also called dihydroquercetin is a flavonoid. Taxifolin is included in the flavonol subclass and polyphenol class. Taxifolin has been found in the leaves, bark and flesh of *Mangifera casturi*. Taxifolin is thought to have potential as an antibreast cancer through its activity as an anti-neoplastic agent. The occurrence of breast cancer begins with overexpression of the Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER-2) protein which can induce dimerization and autophosphorylation of the tyrosine kinase enzyme, resulting in migration and metastasis of breast cancer cells. This study aims to determine the interaction of taxifolin with HER-2 protein by molecular docking. Molecular docking using the SwissDock web server. Parameters of molecular docking include Gibbs free energy and interaction of taxifolin ligands and HER-2 residues. The results of docking molecular expressed by free energy Gibbs of taxifolin compounds with HER-2 protein is -7,99 kcal / mol, while the free energy Gibbs of the native ligand bond with HER-2 protein is -10.76 kcal / mol. The residues on HER-2 that interacts with taxifolin are GLY727, GLY804, LEU726, THR798, ASP863, ALA730, SER728, ARG849, GLY729, CYS805, THR862, VAL734, LEU852, LYS753, ALA751, ASP808, ARG849, ASN850. The value of Gibbs free energy and the interaction of residues indicate that taxifolin compounds have potential as anticancer breasts. Taxifolin as an inhibitor of HER-2 protein expression.

KEYWORD: Taxifolin; Breast cancer; *Mangifera casturi*; Molecular docking; HER-2

PENDAHULUAN

Pohon kasturi (*Mangifera casturi*) adalah salah satu dari banyak spesies mangga yang ditemukan di Kalimantan, Indonesia. Kata 'Casturi' berasal dari daerah pedesaan di sekitar Banjarmasin di Kalimantan Selatan, yang disebut Kalimantan atau Kasturi. *Mangifera casturi* merupakan tanaman eksotik dengan karakteristik berbeda dengan kelompok *Mangifera* lainnya. Pohon kasturi dapat mencapai ketinggian 15 m dan dapat hidup pada kondisi cuaca ekstrim. *Mangifera casturi* mengandung senyawa bioaktif seperti golongan alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid dan fenolik yang terbukti dapat digunakan sebagai antioksidan, anti inflamasi, antibakteri, antijamur, antidiabetes, antileukimik dan imunostimulan. *Mangifera casturi* berpotensi sebagai pengobatan tradisional (Sukmana *et al.*, 2020).

Taxifolin (5,7,3',4'-flavan-on-ol), dikenal sebagai dihydroquercetin, termasuk dalam subkelas flavanonol dalam flavonoid, yang merupakan kelas polifenol. Taxifolin, dan flavonoid secara umum, dapat ditemukan di banyak minuman dan produk. Secara khusus, taksifolin ditemukan dalam makanan nabati seperti buah, sayuran, anggur, teh, dan kakao (Brusselmans *et al.*, 2005). Taxifolin juga ditemukan pada ekstrak batang *Mangifera casturi* (Pardede & Koketsu, 2017).

Taxifolin banyak dihubungkan dengan pengobatan kanker payudara. Taksifolin dikaitkan dengan penurunan tingkat ekspresi AKT serin/treonin kinase 1 (AKT). Senyawa ini dapat digunakan sebagai agen terapi baru yang potensial untuk pengobatan osteosarcoma (Chen *et al.*, 2018). Taksifolin

memiliki potensi untuk menghambat proliferasi, migrasi, dan invasi sel kanker payudara yang sangat agresif dengan cara yang bergantung pada dosis. Taksifolin dapat digunakan sebagai agen yang menjanjikan dalam pengobatan klinis pasien kanker payudara yang sangat agresif (Li *et al.*, 2019).

Pengujian aktivitas antikanker payudara secara *in silico* dapat dilakukan terhadap protein Human Epidermal Growth Factor 2 (HER-2) (Rohmah, 2017). Reseptor penting pada sel payudara adalah protein HER-2. Peran protein HER-2 adalah membantu mengendalikan pertumbuhan proliferasi dan pertumbuhan sel payudara, dalam kondisi normal. HER-2 menjadi target pengobatan kanker. Inhibisi pada protein HER-2 akan mencegah aktivasi beberapa tahap pensinyalan secara intrasel yang dapat menyebabkan karsinogenesis (Amtiria *et al.*, 2018).

Evaluasi molecular docking atau penambatan molekul adalah penapisan senyawa dengan prinsip berdasarkan struktur dengan bantuan komputer. Proses docking akan mengeksplorasi interaksi suatu molekul seperti kandidat obat dengan suatu protein target yang saling berikatan satu dengan yang lain. Penelitian ini dilakukan secara molecular docking untuk memprediksi potensi senyawa taxifolin dari pohon kasturi sebagai antikanker payudara.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu berupa perangkat keras laptop ASUS X441U Windows 10 Ultimate 64bit yang terkoneksi dengan internet, Processor Intel® Core i3-6006U 2.0GHz, RAM 4GB DDR3L, HDD 500GB, NVIDIA GeForce 920MX 2GB serta perangkat lunak yaitu Mozilla Firefox untuk mengakses web server RCSB PDB <https://www.rcsb.org/>, web server PubChem <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>, web server pkCSM <http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/>, dan Swiss ADME <http://www.swissadme.ch/> dan web server SwissDock <http://www.swissdock.ch/> untuk proses docking. Perangkat lunak USCF Chimera 1.15 untuk preparasi protein, senyawa uji dan native ligand yang dapat diunduh dari <https://www.cgl.ucsf.edu/chimera/download.html>. Perangkat lunak Discovery Studio Visualizer untuk visualisasi interaksi residu asam amino hasil docking.

Bahan yang digunakan yaitu struktur 2D yang diunduh dari <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> dengan kode PubChem CID dari senyawa Taxifolin (439533). Struktur 3D protein target yang diunduh dari RCSB PDB (<https://www.rcsb.org/>) dengan format .pdb yaitu 3PP0 (Human Epidermal Growth Factor).

Analisis Farmakokinetik

Analisis farmakokinetik Senyawa taxifolin menggunakan web server pkCSM <http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/> dan SwissADME <http://www.swissadme.ch/>. Hasil yang didapatkan berupa Oral Rat Acute Toxicity (LD50), Hepatotoxicity dan Skin Sensitisation untuk pkCSM dan Bioavailability untuk Swiss ADME.

Preparasi Ligan dan Protein

Struktur 3D senyawa taxifolin diunduh dari database Pub Chem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) dengan kode PubChem CID 439533. Preparasi Senyawa taxifolin dan native ligand menggunakan program USCF Chimera1.15. Struktur 3D protein HER-2 (kode PDB 3PP0) didapat dari database RCSB PDB (<http://www.rcsb.org/>). Preparasi protein dilakukan dengan program USCF Chimera 1.15.

Docking Molekular

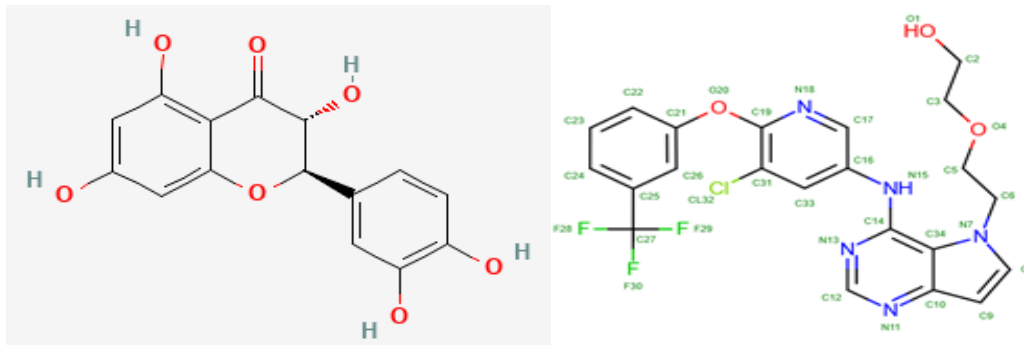
Docking molekul menggunakan web server SwissDock (<http://www.swissdock.ch/>). Hasil docking divisualisasikan menggunakan Program Discovery Studio Visualizer (<https://discover.3ds.com/discovery-studio-visualizer-download>).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ligan Docking

Ligan docking adalah taxifolin dan native ligan dari protein HER-2. 4. Taxifolin (Dihydroquercetin) memiliki (2R,3R)-konfigurasi, berat molekul 304 g/mol, memiliki 5 donor ikatan

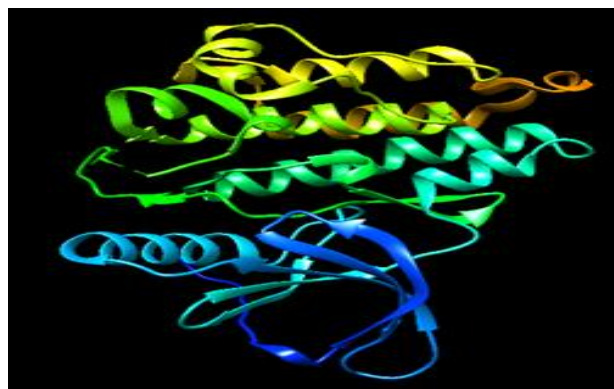
hidrogen dan 7 akseptor ikatan hidrogen. Taxifolin memiliki peran sebagai sebagai metabolit, antioksidan dan antiparasit (Vega-Villa et al., 2009). Preparasi senyawa taxifolin dan native ligand menggunakan program USCF Chimera1.15 dengan cara dipilih tools lalu pilih structure editing kemudian pilih minimize structure dan pilih minimize. Senyawa uji yang sudah siap didocking disimpan dalam format *.mol2. Gambar 1. Adalah struktur 2 dimensi taxifolin dan native ligan pada HER-2, yaitu 03Q.



Gambar 1 Ligan docking: a. taxifolin, b. 03Q (2-{2-[4-({5-chloro-6-[3-(trifluoromethyl)phenoxy]pyridin-3-yl}amino)-5H-pyrrolo[3,2-d]pyrimidin-5-yl]ethoxy}ethanol)

Protein Docking

Struktur kristalografi protein 3D disediakan oleh situs RCSB PDB (<https://www.rcsb.org/>). Penelitian ini menggunakan protein target yaitu HER-2 (Human Epidermal Growth Factor-2), dengan PDB ID 3PP0. Protein HER-2 merupakan struktur kristalografi domain Kinase dari Human ErbB2 yang memiliki resolusi 2,25 Å. Famili ini terdiri dari EGFR (ErbB1), HER-2 (ErbB2, HER2/neu), HER-3 (ErbB3) dan HER-4 (ErbB4). Semua reseptor dalam keluarga ErbB mengandung wilayah tirosin kinase sitoplasma, kecuali untuk HER-2 yang mengikat ligan tertentu melalui domain ekstraseluler (Carter et al., 1992). Protein HER-2 berperan dalam penting dalam pengaturan proliferasi sel, diferensiasi dan migrasi sel payudara, dalam keadaan normal. Bertambah banyaknya jenis gen HER-2 akan menyebabkan sel payudara memproduksi terlalu banyak reseptor HER-2 sehingga protein HER-2 akan mengalami ekspresi berlebih. Proses tersebut menyebabkan pertumbuhan dan proliferasi sel payudara tidak terkendali dan berubah menjadi tumor ganas (Liao, 2016). Studi in vitro telah menunjukkan bahwa penghambatan ekspresi HER-2 dapat menginduksi apoptosis sel kanker payudara. Protein HER-2 menjadi target pengobatan kanker payudara dan sebagai prediktor respon kemoterapi kanker payudara (Widjaja, 2011). Penelitian in silico yang dilakukan oleh Suherlan *et al.*, (2021), menyebutkan bahwa senyawa andrografolida tumbuhan sambiloto dapat dijadikan senyawa kandidat antikanker payudara berdasarkan hasil penambatan molekul dengan reseptor HER-2. Gambar 2. Adalah protein target docking, HER-2.



Gambar 2 Protein target docking HER-2

Analisis Farmakokinetik

Senyawa taxifolin ditentukan sifat farmakokinetik secara *in silico*. Karakteristik farmakokinetik suatu senyawa akan menentukan karakteristik absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi dan toksisitas (ADMET). Analisis farmakokinetik tersebut dapat dilakukan secara online menggunakan web server pkCSM (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsm/prediction>) yang meliputi analisis Oral Rat Acute Toxicity (LD-50), Hepatotoxicity, Skin Sensitization. Sedangkan analisis Bioavailability menggunakan web server SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>). Tabel 1. menunjukkan hasil analisis farmakokinetik Senyawa taxifolin.

Tabel 1 Analisis Farmakokinetik Senyawa Taxifolin

Senyawa	LD-50 Oral Rat Acute Toxicity (mol/Kg)	Hepatotoxicity	Skin Sensitization	Bioavailability
Taxifolin	2,261	No	No	0.55

No = tidak mempunyai sifat, Yes = mempunyai sifat

Tabel 1 menunjukkan bahwa senyawa taxifolin tidak menimbulkan sifat alergi kulit (*Skin Sensitisation*). Skin sensitisation adalah efek samping oleh produk yang diaplikasikan secara dermal dan dapat menyebabkan alergi (Goebel *et al.*, 1970). Nilai bioavailability senyawa taxifolin sebesar 0,55. Bioavailability adalah kecepatan dan jumlah relatif obat untuk mencapai sirkulasi tubuh secara sistemik. Nilai bioavailability lebih dari 0,55 dikatakan baik karena kecepatan dan jumlah relatif obat yang mencapai sirkulasi ke seluruh peredaran darah berjalan dengan baik (Le, 1989). Hepatotoxicity adalah reaksi yang disebabkan oleh akumulasi sifat obat yang berbahaya di dalam hati (Andrade *et al.*, 2007). Berdasarkan hasil yang ditunjukkan pada tabel 1, senyawa taxifolin tidak bersifat hepatotoksik.

Dosis Letal 50% atau LD50 adalah nilai standar tolak ukur kuantitatif yang digunakan untuk mengukur kisaran dosis letal pada uji toksisitas akut obat (Jumain *et al.*, 2018). Uji toksisitas akut perlu dilakukan untuk memperoleh informasi awal sebelum menentukan kandidat senyawa obat, karena obat merupakan senyawa kimia yang belum tentu sepenuhnya aman dan bisa diterima oleh tubuh. LD50 diartikan sebagai dosis yang diperlukan untuk dapat membunuh 50% dari kelompok hewan uji (Syahmi *et al.*, 2010). Semakin besar dosis LD50 senyawa uji maka semakin rendah sifat toksisitasnya, sebaliknya semakin kecil dosis LD50 senyawa uji maka semakin toksik dan berbahaya senyawa tersebut. Taxifolin mempunyai nilai LD50 sebesar 2,261 mol/Kg, dengan kategori sifat cukup toksik.

Docking Molekular

Docking molekular secara online menggunakan web server SwissDock (<http://www.swissdock.ch/>) untuk memprediksi interaksi molekular antara protein target HER-2 dan senyawa ligan taxifolin. Hasil yang diperoleh adalah data energi (ΔG) dan interaksi ligan dan residu yang dihasilkan oleh proses docking (Ferreira & Jr., 2019). Interaksi molekular antara ligan dan reseptor meliputi interaksi elektrostatis, interaksi hidrofobik, dan ikatan hidrogen, yang juga berkontribusi terhadap nilai energi ikatan (ΔG) (Arwansyah *et al.*, 2014). Tabel 2. adalah hasil docking molekular Senyawa taxifolin dan native ligan dengan protein target HER-2.

Berdasarkan hasil penambatan molekul pada Tabel 2, senyawa Taxifolin yang berinteraksi dengan protein HER-2 memiliki nilai energi bebas Gibbs (ΔG) = -7,99 kkal/mol. Sementara itu, ligan alami 03Q, berinteraksi dengan protein HER-2 memiliki nilai energi bebas Gibbs (ΔG) = -10,76 kkal/mol. Nilai ΔG senyawa Taxifolin lebih besar dibandingkan dengan ligan alami. Sehingga dapat dikatakan bahwa ligan alami 03Q lebih stabil jika dibandingkan dengan senyawa Taxifolin. Tetapi nilai energi bebas Gibbs (ΔG) \leq -7,00 kkal/mol, dapat dikatakan berinteraksi cukup stabil. Interaksi Senyawa taxifolin dengan protein HER-2 yang membentuk kompleks yang cukup stabil. Hal ini ditandai dengan adanya 13 residu asam amino pada protein HER-2 yang sama antara yang berikatan dengan taxifolin dan ligan alami 03Q. Residu asam amino tersebut adalah: ASP808, ARG849, GLY727, GLY804, THR798, ASP863, GLY729, CYS805, THR862, VAL734, LEU852, LYS753, ALA751. Ada kemiripan interaksi antara taxifolin dan ligan alami 03Q dengan protein HER-2. Protein HER-2 dapat menjadi target pengobatan kanker payudara dan sebagai prediktor respon kemoterapi (Widjaja, 2011).

Sehingga dapat dikatakan senyawa taxifolin dengan penambatan protein HER-2 memiliki potensi sebagai inhibitor dalam aktivitas antikanker payudara.

Tabel 2 Hasil Docking Molekular Senyawa Taxifolin dan Ligan alami dengan Protein Target HER-2

Senyawa ligan	Protein target	ΔG kkal/mol	= Ikatan hidrogen	Interaksi hidrofobik
Taxifolin	HER-2	-7,99	ASP808, ARG849, ASN850	GLY727, GLY804, LEU726, THR798, ASP863, ALA730, SER728 (Van der Waals); GLY729 (Carbon Hydrogen Bond); CYS805, THR862 (Pi-Donor Hydrogen Bond); VAL734 (Pi-Sigma); LEU852, LYS753, ALA751 (Pi Alkyl)
Ligan alami (03Q)	HER-2	-10,76	SER783, THR862, ASP808	VAL797, ILE752, LEU796, LEU807, ARG784, ARG811, ARG849, GLY727, GLY729, GLY804, ASP863, ALA751, PHE864, MET774 (Van der Waals); SER728, LEU726 (Carbon Hydrogen Bond); THR798, VAL734 (Pi sigma); LEU852, LYS753, CYS805 (Pi alkyl)

KESIMPULAN

Taxifolin dari *Mangifera casturi* berpotensi dalam aktivitas antikanker payudara berdasarkan hasil dari nilai ΔG dan interaksi residu asam amino. Komplek taxifolin-HER-2 mempunyai nilai ΔG cukup rendah Taxifolin memiliki nilai LD50 2,261 mol/Kg termasuk cukup toksik, tidak memiliki sifat hepatotoxicity dan skin sensitisation. Residu asam amino pada HER-2 yang berinteraksi memiliki banyak kemiripan antara taxifolin dan native ligand 03Q. Protein HER-2 dapat digunakan sebagai target inhibitor antikanker dalam pengobatan kanker payudara menggunakan senyawa taxifolin.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Bapak Tanto Budi Susilo yang telah banyak memberi masukan dan saran dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Andrade, R. J., Robles, M., Fernández-Castañer, A., López-Ortega, S., López-Vega, M. C., & Lucena, M. I. (2007). Assessment of drug-induced hepatotoxicity in clinical practice: A challenge for gastroenterologists. *World Journal of Gastroenterology*, 13(3). <https://doi.org/10.3748/wjg.v13.i3.329>.
- Brusselmans, K., Vrolix, R., Verhoeven, G., & Swinnen, J. V. (2005). Induction of cancer cell apoptosis by flavonoids is associated with their ability to inhibit fatty acid synthase activity. *Journal of Biological Chemistry*, 280(7). <https://doi.org/10.1074/jbc.M408177200>
- Carter, P., Presta, L., Gorman, C. M., Ridgway, J. B. B., Henner, D., Wong, W. L. T., Rowland, A. M., Kotts, C., Carver, M. E., & Shepard, H. M. (1992). Humanization of an anti-p185HER2 antibody for human cancer therapy. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89(10). <https://doi.org/10.1073/pnas.89.10.4285>

- Chen, X., Gu, N., Xue, C., & Li, B. R. (2018). Plant flavonoid taxifolin inhibits the growth, migration and invasion of human osteosarcoma cells. *Molecular Medicine Reports*, 17(2). <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.8271>
- Goebel, C., Diepgen, T. L., Krasteva, M., Schlatter, H., Nicolas, J. F., Blömeke, B., Coenraads, P. J., Schnuch, A., Taylor, J. S., Pungier, J., Fautz, R., Fuchs, A., Schuh, W., Gerberick, G. F., & Kimber, I. (1970). Quantitative risk assessment for skin sensitisation: Consideration of a simplified approach for hair dye ingredients. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 64(3). <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2012.10.004>
- Jumain, J., Syahrini, S., & Farid, F. (2018). Uji Toksisitas akut dan LD50 Ekstrak Etanol Daun Kirinyuh (*Eupatorium odoratum* Linn) Pada Mencit (*Mus musculus*). *Media Farmasi*, 14(1). <https://doi.org/10.32382/mf.v14i1.82>
- Li, J., Hu, L., Zhou, T., Gong, X., Jiang, R., Li, H., Kuang, G., Wan, J., & Li, H. (2019). Taxifolin inhibits breast cancer cells proliferation, migration and invasion by promoting mesenchymal to epithelial transition via β -catenin signaling. *Life Sciences*, 232. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2019.116617>
- Liao, N. (2016). HER2-positive breast cancer, how far away from the cure?-on the current situation of anti-HER2 therapy in breast cancer treatment and survival of patients. *Chinese Clinical Oncology*, 5(3). <https://doi.org/10.21037/cco.2016.05.10>
- Pardede, A., & Koketsu, M. (2017). Antioxidant and antileukemic activity of chemical components from bark of *Mangifera casturi*. *Comparative Clinical Pathology*. <https://doi.org/10.1007/s00580-016-2387-x>
- Rahma Amtiria, H., Khairun, D., & Berawi, N. (2018). Peran Human Epidermal Growth Factor Receptor-2 pada Kanker Payudara. *Journal Agromedicine Unila*, 5.
- Rohmah, M. K. (2017). Studi In Silico Kompleks Ligand-Reseptor Eugenol Daun Basil (*Ocimum basilicum* L.) dengan Reseptor HER2 Pada Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Dengan Kontrol GEFITINIB. *Jurnal Ilmiah Medicamento*, 3(2). <https://doi.org/10.36733/medicamento.v3i2.894>
- Suherlan, S., Rohayah, R., & Fakhri, T. M. (2021). Uji Aktivitas Antikanker Payudara Senyawa Andrografolida Dari Tumbuhan Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm F) Ness.) Terhadap Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER-2) Secara In Silico. *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*, 4(2). <https://doi.org/10.29313/jiff.v4i2.7784>
- Sukmana, B. I., Edyson, Thahir, H., Achmad, H., Huldani, & Bokov, D. O. (2020). Research review on secondary metabolite compounds of mangifera casturi bark and their functions. *International Journal of Pharmaceutical Research*. <https://doi.org/10.31838/ijpr/2020.12.03.309>
- Syahmi, A. R. M., Vijayarathna, S., Sasidharan, S., Latha, Y. L., Kwan, Y. P., Lau, Y. L., Shin, L. N., & Chen, Y. (2010). Acute oral toxicity and brine shrimp lethality of elaeis guineensis jacq., (oil palm leaf) methanol extract. *Molecules*. <https://doi.org/10.3390/molecules15118111>
- Vega-Villa, K. R., Remsberg, C. M., Ohgami, Y., Yáñez, J. A., Takemoto, J. K., Andrews, P. K., & Davies, N. M. (2009). Stereospecific high-performance liquid chromatography of taxifolin, applications in pharmacokinetics, and determination in tu fu ling (*Rhizoma smilacis glabrae*) and apple (*Malus x domestica*). *Biomedical Chromatography*, 23(6). <https://doi.org/10.1002/bmc.1165>
- Widjaja, J. H. (2011). *Peranan status hormonal ER, PR, HER-2/neu dengan terapi kanker payudara*. Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma, Surabaya.