

## AKTIVITAS KALKON TERHADAP RESEPTOR ESTEROGEN $\beta$ (ER- $\beta$ ) SEBAGAI ANTIKANKER PAYUDARA SECARA IN VITRO DAN IN SILICO: *REVIEW*

Avani Chairunnisa, Dudi Runadi

Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran

Jl. Raya Bandung Sumedang km.21, Jatinangor, 45363

[avanichairunnisa@gmail.com](mailto:avanichairunnisa@gmail.com)

### Abstrak

Ditemukan aktivitas antikanker pada *Eugenia aquea* atau jambu air yang telah dibuktikan pada penelitian sebelumnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas senyawa kalkon yang sebagai antikanker payudara sebelum dilakukan uji secara *in vivo*. Didapatkan senyawa kalkon dari daun *Eugenia aquea*, uji aktifitas antikanker senyawa tersebut diidentifikasi dengan dengan penghambatan terhadap *cell line* MCF-7 menggunakan MTT *assay*, dan senyawa kalkon untuk menginduksi apoptosis melalui aktivasi poli (adenosine difosfat-ribose) polymerase (PARP) protein juga diselidiki. Senyawa kalkon juga diuji aktivitasnya dengan *docking* senyawa uji terhadap residu pada reseptor estrogen  $\beta$  (ER-  $\beta$ ). Data hasil simulasi berupa nilai energi bebas Gibbs ( $\Delta G$ ) menunjukkan kestabilan interaksi ligand senyawa uji terhadap residu pada reseptor estrogen  $\beta$  (ER-  $\beta$ ). Hasil *docking* menunjukkan senyawa kalkon dan analognya memiliki potensi sebagai antikanker payudara.

**Kata kunci :** *Eugenia aquea*, MCF-7, *docking*, kalkon, ER- $\beta$ , kanker payudara

### Pendahuluan

Lebih dari 1,2 juta kasus baru di seluruh dunia dan 500.000 kematian setiap tahun disumbang oleh kanker payudara.<sup>1</sup>

Sudah terdapat obat-obat klinis digunakan untuk mengobati kanker payudara, tetapi obat ini tidak memberikan efektivitas optimum bahkan menimbulkan efek samping atau kerusakan pada sel normal yang berat untuk pengobatan kanker.<sup>2</sup> Oleh karena itu, perlu ditemukannya obat-obat alternatif, termasuk obat herbal untuk

mengobati kanker payudara yang mempunyai efek samping lebih kecil dari obat klinis.

Dalam studi lain, 42 spesies tanaman primata-dikonsumsi yang tumbuh di Indonesia dievaluasi untuk aktivitas antiproliferatif mereka terhadap MCF-7 *cell line* payudara manusia menggunakan *bioassay* MTT. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak tanaman tertentu menunjukkan aktivitas

penghambatan yang kuat terhadap MCF-7 proliferasi sel, dan salah satunya adalah ekstrak dari daun *Eugenia aquea* (*E. aquea*). Senyawa tersebut adalah 2',4'-dihidroksi-6-metoksi-3,5-dimetilkalkon dari daun *Eugenia aquea*.<sup>3</sup>

Studi interaksi molekular pada kalkon terhadap protein target telah dilakukan dengan metode molecular docking, di antaranya penelitian yang dilakukan oleh Dwi (2011) menunjukkan bahwa kalkon dan turunannya berpotensi sebagai kandidat obat pada pengobatan kanker payudara dengan berikatan dengan reseptor estrogen- $\beta$  yang terkompleks dengan genistein.<sup>4</sup>

Berdasarkan review artikel Bouker and Hilakivi-Clarke, dilaporkan bahwa genistein berpotensi kuat dalam pencegahan dan pengobatan kanker payudara dikarenakan kemampuan antiproliferasinya<sup>5</sup>. Genistein sendiri berhubungan dengan reseptor estrogen baik reseptor estrogen- $\alpha$  (ER- $\alpha$ ) maupun reseptor estrogen- $\beta$  (ER- $\beta$ ). Keduanya terdistribusi pada sel yang

berbeda, mengatur gen yang terpisah yang menyebabkan memiliki efek yang berbeda. Sebagai target terapeutik, ER- $\alpha$  merupakan faktor yang penting untuk memprediksi prognosis kanker payudara. Sedangkan ER- $\beta$  dapat menghambat proliferasi dan invasi sel kanker payudara.<sup>6</sup>

Biologi komputasi dan bioinformatika berpotensi tinggi dalam ilmu kimia medisinal, tidak hanya mempercepat proses penemuan obat tetapi juga mengubah cara penemuan dan perancangan obat. Rational Drug Design (RDD) memfasilitasi dan mempercepat proses rancangan obat, yang melibatkan berbagai metode untuk mengidentifikasi senyawa baru. Salah satu contoh metode yang digunakan adalah penambatan molekul obat dengan reseptor yang sering disebut molecular docking. Reseptor disini merupakan sisi aktif dari kerja obat yang berperan terhadap efek farmakologi. Penambatan (Docking) adalah proses dimana dua molekul dicocokkan melalui penambatan dalam ruang 3D.<sup>7</sup>

Penelitian ini dirancang untuk mengetahui potensi senyawa kalkon sebagai inhibitor pada reseptor estrogen- $\beta$  yang terkompleks dengan genistein secara *in vitro* dan *in silico* dengan memperhatikan afinitas dan interaksi ligan.

## **Metode**

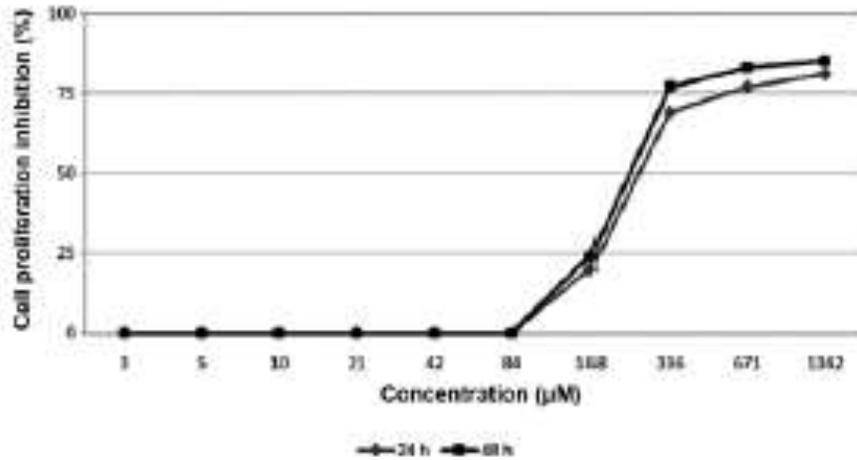
### **Sumber Data dan Strategi Pencarian**

Untuk mendapatkan data sebagai bahan *review* jurnal, penulis melakukan teknik pengumpulan data penelitian studi literatur yang telah dipublikasikan sebelumnya. Literatur yang digunakan adalah artikel dan jurnal penelitian yang dipublikasi pada beberapa situs, seperti Pubmed, NCBI.

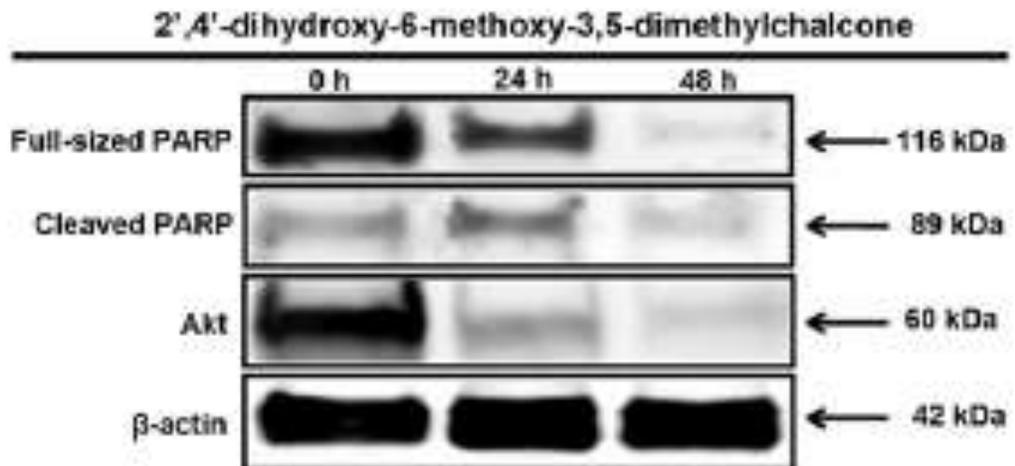
### **Pemilihan Literatur**

Artikel disortir dengan menggunakan search engine dengan kata kunci 'Kristal *Estrogen Receptor- $\beta$*  (ER- $\beta$ )', 'Genistein', 'MCF-7 *cell line*', dan 'kalkon'. Kriteria inklusi yang digunakan adalah (1) menyelidiki aktivitas senyawa kalkon dengan reseptor esterogen secara *in vitro* dan *in vivo*, (2) menyelidiki mekanisme interaksi kalkon dengan reseptor esterogen.

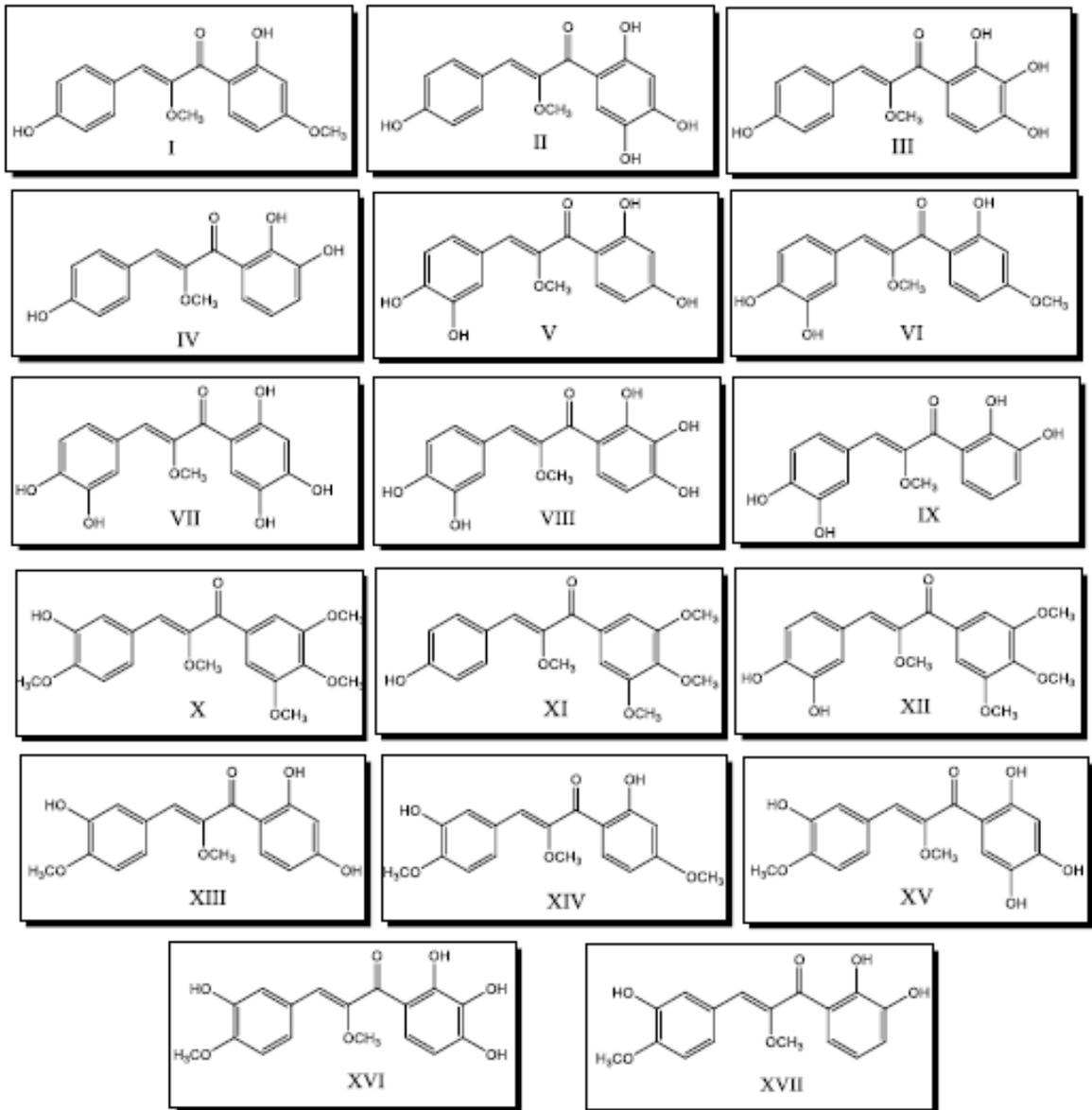
## Hasil



Gambar 1. Efek pemberian 2',4'-dihidroksi-6-metoksi-3,5-dimetilkalkon pada 24 dan 48 jam terhadap proliferasi sel kanker payudara MCF-7.



Gambar 2. Analisis Western blot ekspresi protein PARP (marker apoptosis) terhadap pemberian 2',4'-dihidroksi-6-metoksi-3,5-dimetilkalkon pada 24 dan 48 jam.



Gambar 3. Senyawa kalkon dan analogya

Tabel 1. Hasil *docking* ligan dengan sisi aktif Reseptor Esterogen  $\beta$

Nama Ligan	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
	<i>MolDockScore</i>	<i>MolDockScore</i>	<i>MolDockScore</i>
Genistein	-107,581	-107,578	-107,587
Kalkon	-103,59	-107,615	-91,894
Senyawa A	-128,668	-127,869	-126,786
Senyawa B	-112,645	-112,461	-112,470
Kalkon I	-110,456	-108,501	-110,594
Kalkon II	-111,440	-114,607	-112,167
Kalkon III	-112,823	-113,017	-107,704
Kalkon IV	-115,606	-116,250	-117,604
Kalkon V	-116,649	-117,758	-117,729
Kalkon VI	-110,236	-111,114	-113,607
Kalkon VII	-120,818	-116,373	-121,010
Kalkon VIII	-116,745	-118,206	-116,804
Kalkon IX	-118,670	-118,708	-118,676
Kalkon X	-125,776	-125,793	-122,582
Kalkon XI	-127,942	-125,629	-125,152
Kalkon XII	-129,009	-129,370	-128,767
Kalkon XIII	-117,001	-117,479	-118,834
Kalkon XIV	-106,309	-108,113	-108,779
Kalkon XV	-108,358	-114,433	-115,729
Kalkon XVI	-118,147	-112,483	-112,059
Kalkon XVII	-117,790	-115,842	-117,948

## Pembahasan

### Aktivitas senyawa kalkon secara *in vitro*

Sebelum melakukan uji aktivitas kalkon, dilakukan pengumpulan dan determinasi tumbuhan *Eugenia aquea*, kultur sel MCF-7, uji sensitivitas obat, dan ekstraksi dan isolasi senyawa kalkon. Aktivitas antiproliferatif kalkon dilakukan terhadap MCF-7 cell line payudara manusia menggunakan *bioassay* MTT. MCF cell line merupakan sel yang biasa digunakan untuk menguji aktivitas antikanker. Sel MCF-7 tergolong *cell line adherent* yang mengekspresikan reseptor estrogen.<sup>8</sup> Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak tanaman memiliki aktivitas penghambatan yang kuat terhadap MCF-7 proliferasi sel,

dan salah satunya. Senyawa yang terdapat di ekstrak tersebut adalah 2',4'-dihidroksi-6-metoksi-3,5-dimetilkalkon dari daun *Eugenia aquea*. Hasil dari uji ini Senyawa tersebut menghambat proliferasi garis sel MCF-7 pada 24 dan 48 jam dan menunjukkan nilai IC<sub>50</sub> dari 270  $\mu$ M dan 250  $\mu$ M.<sup>3</sup>

### Aktivitas senyawa kalkon secara *in silico*

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas senyawa kalkon dan 14 turunannya dengan menggunakan metode *docking* terhadap residu pada reseptor esterogen  $\beta$  (ER-  $\beta$ ) dan aktivitas senyawa kalkon dibandingkan dengan genistein yang dilaporkan bahwa berpotensi kuat dalam pencegahan dan pengobatan kanker

payudara dikarenakan kemampuan antiproliferasinya.<sup>4</sup>

Ligan dianggap memiliki potensi dapat masuk ke dalam membran sel dan diserap oleh tubuh jika memenuhi aturan Lipinski dengan kriteria:

- (1) berat molekul <500 gram/mol,
- (2) jumlah grup donor proton ikatan hidrogen <5,
- (3) jumlah grup akseptor proton ikatan hidrogen <10,
- (4) nilai logaritma koefisien partisi dalam air dan 1-oktanol <5.<sup>9</sup>

Sedangkan pada penelitian ini, tidak dilakukan sortasi analog seperti yang disebutkan di atas.

Dari hasil docking senyawa-senyawa, energy Gibbs yang dihasilkan berukuran lebih kecil dari genistein, nilai energi bebas Gibbs yang kecil menunjukkan bahwa konformasi yang terbentuk adalah stabil, sedangkan nilai energi bebas Gibbs yang besar menunjukkan kurang stabilnya kompleks yang terbentuk. Semakin negatif nilai yang dihasilkan, maka semakin baik afinitas kompleks ligan-protein, sehingga diharapkan aktivitasnya pun semakin baik.<sup>10</sup> Selain itu, kalkon XII merupakan analog yang mempunyai energy Gibbs terendah dibanding dengan genistein, kalkon, dan analog kalkon lainnya.<sup>4</sup>

**Mekanisme interaksi kalkon dengan reseptor esterogen**

Senyawa kalkon dapat menghambat proliferasi MCF-7 cell line disebabkan karena senyawa tersebut dimediasi oleh induksi apoptosis yang ditandai oleh aktivasi PARP (biomarker apoptosis).<sup>3</sup>

Senyawa kalkon dapat menghambat proliferasi sel kanker, karena Ikatan hidrogen dari kalkon terdiri dari 2 ikatan H dengan His 475, masing – masing 1 ikatan H dengan Glu 305, Leu 339 dan Arg 346 pada residu reseptor esterogen beta. Selain itu, hidrofobitas yang hampir mirip dengan reseptor beta esterogen dan muatan elektrostatis parsial positif pada protein dan parsial negative pada residu reseptor atau sebaliknya, juga menyumbangkan kestabilan ikatan antara ligan dan reseptor.<sup>4</sup>

### **Kesimpulan**

Dari hasil beberapa uji aktivitas senyawa kalkon secara *in vitro* dan *in silico* yang telah dipaparkan, dapat disimpulkan bahwa senyawa kalkon berpotensi sebagai antikanker payudara. Pada penelitian selanjutnya, disarankan melakukan uji senyawa kalkon secara *in vivo*.

### **Ucapan Terima Kasih**

Penulis mengucapkan terima kasih kepada seluruh pihak yang telah berperan langsung maupun tidak dalam menyelesaikan *review* jurnal ini. Penulis hendak secara khusus menyampaikan ucapan terima kasih kepada Bapak Dudi Runadi selaku dosen pembimbing, dan juga

Bapak Rizky Abdulah selaku dosen metodologi penelitian.

### Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan tidak terdapat potensi konflik kepentingan dengan penelitian, kepenulisan (*authorship*), dan atau publikasi artikel ini.

### Daftar Pustaka

1. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C and Parkin DM: Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 127: 2893-2917, 2010.
2. Sakarkar DM and Deshmukh VN: Ethnopharmacological review of traditional medicinal plants for anticancer activity. *Int J Pharm Tech Res* 3: 298-308, 2011.
3. SUBARNAS A, DIANTINI A, ABDULAH R, et al. Apoptosis induced in MCF-7 human breast cancer cells by 2',4'-dihydroxy-6-methoxy-3,5-dimethylchalcone isolated from *Eugenia aquea* Burm f. leaves. *Oncology Letters*. 2015;9(5):2303-2306.
4. Pratoko, D. Molecular docking turunan kalkon terhadap reseptor estrogen  $\beta$  (ER- $\beta$ ). *Jurnal Kimia Terapan Indonesia (JKTI) Pusat Penelitian Kimia Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI)*, Volume 14 No.1, hal 20-25. Juni 2012.
5. Kerrie B., Bouker and Leena, Hilakivi-Clarke. Genistein : Does it Prevent or Promote Breast Cancer ?. *Environ Health Perspect* 108(8): 701-708 (2000)
6. Lazennec G., Bresson D., Lucas A., Chauveau C., Vignon F. Er $\beta$  Inhibits proliferation and invasion of breast cancer cells. *Endocrinology* 142 : 4120 – 4130 (2001)
7. Ramya T. Sri, V. Sathyanathan, Kumar D. P., Chowdhari M. Docking Studies on Synthesizwd Quinazoline Compounds Against Androgen Receptor. *Int. J. Pharm & Ind. Res* 01 (04) : 266 – 269 (2011)
8. ATCC, 2008, Cell Biology, ATCC® Number: HTB-22TM, Designations: MCF-7, <http://www.atcc.org/ATCCAdvancedCatalogSearch/ProductDetails/tabid/452/Default.aspx?ATCCNum=HTB-22&Template=cellBiology>, 19 Juli 2008.
9. Lipinski CA, Lombardo F, Segawa T, Ko D. 2001. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovey and development setting. *Adv Drug Deliv Rev*. 46: 3-26.
10. Pranowo, Harno Dwi. Pengantar Kimia Komputasi. Jurusan Kimia Fakultas MIPA UGM Yogyakarta.