

In-Silico Study of Active Compounds in Guava Leaves (*Psidium guajava* L.) as Candidates for Breast Anticancer Drugs

Bilqisti K. Karim*, Dinda F. Tsamarah, Annisa Zahira, Nurul F. Rosandi, Kirana F. Swarga, Diah L. Aulifa, Angela A. Elaine, Bernap D.P. Sitinjak

Departemen Analisis Farmasi dan Kimia Medisinal, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Jawa Barat, dan Indonesia.

Submitted 25 December 2023; Revised 17 January 2024; Accepted 17 January 2024 ; Published 18 January 2024

*Corresponding author: bilqisti20001@mail.unpad.ac.id

Abstract

Breast cancer, which is a malignancy in breast tissue, can originate from the ductal or lobule epithelium. In breast cancer, there are 3 main receptors that play a role in the process of cancer cells, namely estrogen (ER), progesterone (PR), and HER2 protein. HER2 is a receptor that is widely used as a targeted therapy in breast cancer. In this research, in-silico study was conducted on guava leaves (*Psidium guajava* L.) compounds using molecular docking methods and Lipinski's and PreADMET predictions. Tests were carried out using software including ChemDraw, BIOVIA Discovery Studio 2020, AutoDock Tools-1.5.6., SwissADME and PreADMET sites. The result showed that apigenin compound has the best interaction with HER2 receptor protein among the other test compounds. Apigenin has a Gibbs energy value and inhibition constant of -7.42 kcal/mol and 2.85 μ M respectively, and also interacts with HER2 receptor protein at key amino acid residues Leu796, Thr798, Thr862, Val734, and Leu852. In addition, apigenin meets Lipinski's rules so it is safe to be administered orally and has a good pharmacokinetic profile with an HIA value of 88,123%; Caco-2 cells 10.547 nm/sec; PPB 97,253%; and BBB 0,565.

Keywords: Breast Cancer, *Psidium guajava* L., HER2 inhibitor, Molecular Docking, Apigenin

Studi In-Silico Senyawa Aktif Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) sebagai Kandidat Obat Antikanker Payudara

Abstrak

Kanker payudara timbul pada jaringan payudara dari pertumbuhan sel-sel abnormal dari epitel duktus maupun lobulus. Salah satu metode terapi kanker payudara yaitu targeted therapy terhadap reseptor HER2. Studi in-silico ini dilakukan dengan tujuan untuk meneliti potensi penambatan senyawa aktif dari daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) terhadap reseptor HER2 (PDB ID: 3PP0) sebagai kandidat antikanker menggunakan metode penambatan molekuler serta prediksi Lipinski's dan PreADMET. Pengujian dilakukan menggunakan perangkat lunak meliputi, *ChemDraw*, *BIOVIA Discovery Studio 2020* dan *AutoDock Tools-1.5.6.*, serta situs SwissADME dan PreADMET. Dari hasil analisis, diketahui senyawa apigenin berinteraksi paling baik dengan protein reseptor HER2 diantara senyawa uji lainnya. Apigenin memiliki nilai energi gibbs dan konstanta inhibisi berturut-turut yaitu sebesar -7,42 kkal/mol dan 2,85 μ M, juga berinteraksi dengan protein reseptor HER2 pada residu asam amino kunci Leu796, Thr798, Thr862, Val734, dan Leu852. Apigenin memenuhi aturan Lipinski sehingga aman untuk diadministrasikan secara oral serta memiliki profil farmakokinetik yang baik dengan nilai HIA 88,123%; Sel Caco-2 10,547 nm/detik; PPB 97,253%; dan BBB 0,565.

Kata Kunci: *Psidium guajava* L., Inhibitor HER2, Kanker Payudara, Penambatan Molekuler, Apigenin

1. Pendahuluan

Kanker merupakan sekelompok besar penyakit yang terdapat di hampir semua organ ketika sel-sel abnormal tumbuh tak terkendali melampaui batas. Kanker dikategorikan sebagai penyakit yang sangat berbahaya karena penyakit ini dapat menyebar ke organ tubuh yang berdekatan dengan organ yang telah memiliki sel-sel kanker.¹ Kanker payudara merupakan jenis kanker yang menempati urutan pertama sebagai jumlah kanker terbanyak di Indonesia serta menjadi salah satu penyebab kematian nomor satu akibat kanker. Berdasarkan data pada tahun 2020 dari GLOBOCAN (*Global Cancer Observatory*), jumlah kasus baru kanker payudara di Indonesia mencapai 68.858 kasus (16,6%) dari total 396.914 kasus baru kanker dengan jumlah kematian mencapai lebih dari 22 ribu jiwa kasus.²

Pada kanker payudara, terdapat 3 reseptor utama yang berperan dalam proses terjadinya sel kanker, yaitu estrogen (ER), progesteron (PR), dan *human epidermal growth factor receptor-2* (HER2). Analisis ketiga reseptor tersebut merupakan prosedur tetap dalam manajemen diagnosis dan terapi pada pasien dengan kanker payudara.³ Dari ketiga reseptor utama yang berperan, HER2 merupakan reseptor yang banyak digunakan sebagai *targeted therapy* pada kanker payudara. Reseptor faktor pertumbuhan epidermal manusia atau *human epidermal growth factor receptor* (HER) memainkan peran sentral dalam patogenesis kanker payudara dengan mengatur pertumbuhan sel, kelangsungan hidup, dan diferensiasi melalui beberapa jalur transduksi sinyal dan berpartisipasi dalam proliferasi dan diferensiasi sel. HER2 merupakan reseptor tirosin kinase transmembran dengan homologi parsial yang biasanya mengatur pertumbuhan dan kelangsungan hidup sel, serta adhesi, migrasi, diferensiasi, dan respons seluler lainnya. Reseptor tirosin kinase berperan sebagai pengikat molekul sinyal ekstrasel sekaligus sebagai enzim yang memfosforilasi atau menginisiasi rangkaian fosforilasi untuk menimbulkan respon sel target.^{4,5}

HER2 diekspresikan di banyak

jaringan dan peran utamanya adalah untuk memfasilitasi pertumbuhan sel dan tumorigenesis yang berlebihan atau tidak terkendali. Reseptor HER terdiri dari situs pengikatan ligan ekstraseluler yang kaya sistein, segmen lipofilik transmembran, dan domain intraseluler dengan aktivitas katalitik tirosin kinase. HER2 diekspresikan secara berlebihan pada 15-30% kanker payudara invasif. Kanker payudara dapat memiliki hingga 25-50 salinan gen HER2 dan peningkatan protein HER2 hingga 40-100 kali lipat yang menghasilkan 2 juta reseptor yang diekspresikan pada permukaan sel tumor.⁴

HER2 telah berhasil digunakan sebagai *targeted therapy* pada kanker payudara. Salah satu obat yang menargetkan HER2 adalah lapatinib, yang merupakan obat inhibitor tirosin kinase ganda oral. Obat ini memblokir aktivitas tirosin kinase HER1 dan HER2 dengan mengikat situs pengikatan ATP dari domain intraseluler reseptor, menghasilkan penghambatan pertumbuhan sel tumor. Namun, tidak semua sel dengan ekspresi HER2 yang berlebih dapat memberikan respon yang baik terhadap lapatinib. Saat ini juga diketahui bahwa resistensi terhadap lapatinib telah berkembang pada sebagian pasien.^{6,7} Oleh karena itu, penemuan dan pengembangan obat antikanker yang dapat menghambat aktivitas kinase dari HER2 perlu dilakukan guna meningkatkan efektivitas terapi antikanker.

Senyawa yang berasal dari bahan alam memiliki potensi untuk dikembangkan menjadi obat. Selain memiliki aktivitas farmakologi, senyawa bahan alam juga dikenal memiliki toksisitas intrinsik serta efek samping yang rendah.⁸ Daun jambu biji merupakan salah satu bahan alam yang mengandung senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai bahan terapi antikanker. Beberapa senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) diantaranya flavonoid, tanin, polifenol, alkaloid, kuinon, saponin, monoterpenoid, dan seskuiterpen. Flavonoid, yang merupakan salah satu senyawa mayor yang terdapat dalam daun jambu biji, telah diteliti dan terbukti memiliki potensi penghambatan

proliferasi berbagai jenis sel kanker. Kuersetin merupakan salah satu flavonoid pada daun jambu biji yang dapat menghambat proliferasi sel kanker. Senyawa metabolit lain yang berperan dalam menghambat kanker adalah katekin, asam galat, apigenin dan kaempferol.⁹

Pengujian dengan metode MTT assay telah membuktikan bahwa fraksi-fraksi dari ekstrak daun jambu biji dapat menghambat pertumbuhan sel kanker paru-paru manusia (A549), hati (HepG2), payudara (MCF7), dan usus (HT-29). Pada penelitian yang dilakukan Dwitianti tahun 2018, diketahui ekstrak etanol 70% daun jambu biji memiliki sifat sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D dengan nilai LC50 pada inkubasi 24 jam sebesar 27,54 µg/ml dalam rentang amat sangat toksik yaitu 5-50 µg/ml. Hasil ini menunjukkan adanya potensi daun jambu biji sebagai obat sitotoksik.¹⁰ Kandungan apigenin pada daun jambu biji juga telah terbukti menginduksi penurunan risiko kanker tertentu, terutama kanker payudara, saluran pencernaan, kulit, prostat, paru-paru, dan ovarium serta keganasan hematologi tertentu.¹¹

Pengembangan terapi obat yang berasal dari bahan alam menjadi suatu urgensi tersendiri dikarenakan adanya efek samping yang seringkali muncul pada terapi obat konvensional yang berasal dari bahan kimia. Efek samping terapi kanker yang paling umum adalah mual dan muntah, kelelahan, penurunan nafsu makan, perubahan rasa, rambut rontok, mulut kering, dan sembelit. Efek samping tersebut dapat mempengaruhi kepatuhan pasien dalam mengikuti regimen obat dan menghambat proses terapi. Identifikasi pengobatan baru untuk meringankan efek samping akibat kemoterapi diperlukan untuk meningkatkan kualitas hidup pasien kanker.¹

Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui interaksi senyawa aktif pada daun jambu biji yang berpotensi untuk menjadi kandidat obat antikanker payudara terhadap reseptor HER2. Sebagai langkah awal proses penemuan dan pengembangan obat ini, dilakukan studi *in-silico* (komputasi) yang dapat menguji kemampuan suatu

senyawa (ligan) agar dapat berinteraksi dengan reseptornya melalui parameter komputasi dan algoritma tertentu. Dalam satu dekade terakhir, penggunaan metode *in-silico* mengalami peningkatan dalam penemuan dan pengembangan obat. Hal tersebut dikarenakan kelebihan dari metode *in-silico* yang dapat mengeliminasi senyawa inaktif lebih dini serta telah terbukti dari beberapa percobaan bahwa keakuratannya lebih tinggi dibandingkan dengan studi menggunakan pemodelan hewan.¹² Dalam studi *in-silico* ini digunakan senyawa aktif pada daun jambu biji sebagai kandidat senyawa yang akan diteliti, lapatinib sebagai senyawa pembanding, serta reseptor HER2 sebagai situs penambatan senyawa aktif. Penelitian dilakukan dengan serangkaian tahapan pengujian yang meliputi prediksi *Lipinski's Rule of Five* (RO5), prediksi ADMEToks (Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, dan Toksisitas), validasi metode penambatan molekuler, dan simulasi penambatan molekuler hingga diperoleh senyawa yang berpotensi menjadi kandidat obat antikanker payudara.

2. Metode

2.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini termasuk perangkat keras berupa laptop dengan spesifikasi tertentu, yaitu laptop merk ASUS VIVOBOK 14 K413EQ i5-1135G7 dengan Nvidia MX350 2GB, 8GB RAM, dan harddisk. Selain itu, digunakan pula beberapa program dan situs web, antara lain *Research Collaboratory for Structural Bioinformatics* (RCSB) *Protein Data Bank* (<https://www.rcsb.org/>) untuk mengunduh struktur protein reseptor, Pubchem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) untuk mengunduh struktur senyawa uji dan senyawa pembanding.

Dalam proses penelitian, aplikasi *ChemDraw Ultra 12.0* digunakan untuk menggambar struktur 2D senyawa uji dan senyawa pembanding, sementara *Chem3D Pro 12.0* digunakan untuk meminimalkan energi dari ligan uji. Situs web *SwissADME* (<http://www.swissadme.ch/>) digunakan untuk mendapatkan prediksi *Lipinski's Rule of Five* dari senyawa uji dan senyawa pembanding, sedangkan *PreADMET* (<https://preadmet>.

webservice.bmdrc.org/) memberikan prediksi absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi (ADME) serta toksisitas dari senyawa-senyawa tersebut.

Dalam tahap simulasi penambatan molekuler, digunakan program *AutoDock Tools-1.5.6* dari *The Scripps Research Institute, USA*. Untuk persiapan ligan dan reseptor serta visualisasi struktur 3D hasil penambatan molekuler, program *The BIOVIA Discovery Studio 2020 Client* digunakan.

2.2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini mencakup struktur PDB HER2, yang didapat melalui situs web *RCSB Protein Data Bank (PDB)* (<https://www.rcsb.org/>) dengan PDB ID: 3PP0, database ligan aktif yang diperoleh dari laman web *Binding DB* (<https://www.bindingdb.org/bind/index.jsp>), database ligan decoy yang diperoleh dari laman web *DUD-E* (<http://dude.docking.org/>), senyawa obat pembanding yaitu lapatinib, serta senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas biologis yang berasal dari daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) yaitu galokatekin, aromadendren, beta sitosterol, kariofilen oksida, asam elagat, hiperosida, asam oleanolat, kuersetin, apigenin, kaempferol, asam ursolat, asam galat, katekin, dan mirisetin.

2.3. Prosedur Rinci

2.3.1. Prediksi *Lipinski's Rule of Five*

Prediksi senyawa yang sesuai dengan aturan *Lipinski* dilakukan dengan cara menggambarkan struktur atau memasukkan format SMILES senyawa ke dalam situs web *SwissADME* (<http://www.swissadme.ch/>). Langkah berikutnya mengevaluasi berdasarkan kriteria tertentu, seperti berat molekul ≤ 500 Da, nilai $MLog P \leq 4,15$, jumlah donor ikatan hidrogen ≤ 5 , dan jumlah akseptor ikatan hidrogen ≤ 10 .

2.3.2. Prediksi Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, dan Toksisitas

Prediksi terhadap absorpsi, distribusi, metabolisme, dan toksisitas senyawa uji dan obat pembanding dilakukan dengan cara memvisualisasikan struktur senyawa pada situs

web *PreADMET* (<https://preadmet.bmdrc.kr/>). Pengamatan selanjutnya dilakukan dengan mempertimbangkan parameter seperti nilai HIA dan Caco2 dalam profil penyerapan, nilai PPB dan BBB dalam profil distribusi, dan potensi mutagenik serta karsinogenik dalam profil toksisitas.

2.3.3. Preparasi Ligan dan Reseptor

Struktur protein HER2 yang dipakai didapatkan dari situs web *RCSB Protein Data Bank (PDB)* dengan ID PDB 3PP0 (<https://www.rcsb.org/>). Proses persiapan protein melibatkan penggunaan *BIOVIA Discovery Studio*, sementara untuk ligan, persiapan dilakukan menggunakan aplikasi *ChemDraw* dan *Chem3D*. Struktur 2D dari ligan digambar menggunakan program *ChemDraw Ultra 12.0*, dan dilanjutkan dengan melakukan minimasi energi ke dalam bentuk 3D menggunakan program *Chem3D Pro 12.0*.

2.3.4. Validasi Metode Penambatan Molekuler

Validasi metode penambatan molekuler dilakukan menggunakan aplikasi *Autodock Tools* (*Autodock 4.2.6* dan *Autogrid*) dengan melakukan *re-docking* pada ligan alami pada protein HER2 yang telah dihilangkan ligan alaminya. Parameter validasi metode adalah *Root Mean Square Deviation (RMSD)*. RMSD yang dapat diterima adalah $\leq 2,0$ Å.

Proses validasi metode penambatan molekuler dilakukan dengan memakai aplikasi *Autodock Tools* (*Autodock 4.2.6* dan *Autogrid*) melalui *re-docking* pada ligan asli pada protein HER2 setelah ligan asli tersebut dihapus. Parameter validasi metode dievaluasi berdasarkan *Root Mean Square Deviation (RMSD)*. Kriteria kesesuaian RMSD yang diterima adalah $\leq 2,0$ Å.

2.3.5. Simulasi Penambatan Molekuler

Simulasi penambatan molekuler pada ekstrak daun jambu biji dan senyawa pembanding dilakukan dengan *Autodock Tools* (*Autodock 4.2.6* dan *Autogrid*). Proses ini dimulai dengan melakukan modifikasi struktur ligan dan protein atau reseptor, yang kemudian disimpan dalam format PDBQT.

Selanjutnya, simulasi penambatan molekuler dijalankan dengan menetapkan ukuran *grid box* sebesar 42 x 42 x 42 pada jarak 0,375 Å, dengan koordinat pusat *grid box* yakni $x = 16.622$, $y = 17.394$, dan $z = 26.218$. Implementasi hasil dilakukan melalui 100 runs *Genetic Algorithm Lamarckian* dengan ukuran populasi sebanyak 150 *docking*.

Parameter yang dievaluasi dari simulasi penambatan molekuler melibatkan clustering histogram, RMSD, perkiraan energi bebas pengikatan, dan perkiraan konstanta penghambatan. Hasil kompleks konformasi dari simulasi penambatan molekuler, interaksi ligan, dan diagram 2D dapat divisualisasikan melalui perangkat lunak *BIOVIA Discovery Studio*.

3. Hasil

3.1. Prediksi *Lipinski's Rule of Five*

Lipinski's Rule of Five (RO5) merupakan suatu parameter yang dapat memprediksikan

kelayakan suatu obat untuk diadministrasikan secara oral. Metode ini dilakukan untuk mempercepat proses penemuan dan pengembangan obat yang didasarkan pada sifat kelarutan dan permeabilitas kandidat obat melalui jalur oral.¹³ Pada Tabel 1 menunjukkan bahwa terdapat 13 dari 14 senyawa daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) menunjukkan *violation* terhadap aturan Lipinski yang di bawah 2 yang berarti memenuhi syarat *Rule of Five* (RO5) sehingga dapat dijadikan sebagai kandidat obat oral.

3.2. Prediksi Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, dan Toksisitas

Dalam penemuan dan pengembangan obat, kalkulasi adsorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi (ADME) serta toksisitas dari suatu obat perlu dilakukan untuk menghindari adanya masalah farmakokinetik obat. Tabel 2 menunjukkan hasil prediksi absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan

Tabel 1. Hasil Prediksi *Lipinski's Rule of Five*

No	Nama Senyawa	Berat Molekul (< 500 Da)	MLog P (<4,15)	Ikatan Hidrogen		Violation	Drug Likeness
				Donor (<5)	Akseptor (< 10)		
1.	Lapatinib	581,06	3,44	2	8	1	Ya
2.	Galokatekin	306,27	-0,29	6	7	1	Ya
3.	Aromadendren	204,35	5,65	0	0	1	Ya
4.	Beta sitosterol	414,71	6,73	1	1	1	Ya
5.	Kariopilen oksida	220,35	3,67	0	1	0	Ya
6.	Asam elagat	302,19	0,14	4	8	0	Ya
7.	Hiperosida	464,38	-0,84	8	12	2	Tidak
8.	Asam oleanolat	456,70	5,82	2	3	1	Ya
9.	Kuersetin	302,24	-0,56	5	7	0	Ya
10.	Asam ursolat	456,70	5,82	2	3	1	Ya
11.	Asam galat	170,12	-0,16	4	5	0	Ya
12.	Katekin	290,27	0,24	5	6	0	Ya
13.	Apigenin	270,24	0,52	3	5	0	Ya
14.	Kaempferol	286,24	-0,03	4	6	0	Ya
15.	Mirisetin	318,24	-1,08	6	8	1	Ya

Tabel 2. Parameter Penentuan ADME dan Toksisitas

No	Nama Senyawa	Absorpsi		Distribusi		Toksisitas		
		HIA (%)	Caco-2 (nm/sec)	PPB (%)	BBB	Mutagen	Karsinogen	
							Mouse	Rat
1.	Lapatinib	96,867	17,991	97,564	0,031	Tidak	(-)	(-)
2.	Galokatekin	45,952	0,378	100,00	0,223	Ya	(-)	(-)
3.	Aromadendren	100,00	23,494	100,00	11,141	Ya	(-)	(+)
4.	Beta sitosterol	100,00	52,373	100,00	19,889	Tidak	(+)	(-)
5.	Kariopilen oksida	100,00	56,348	90,850	3,752	Ya	(+)	(+)
6.	Asam elagat	61,395	20,489	88,402	0,321	Ya	(-)	(+)
7.	Hiperosida	11,777	9,439	59,158	0,032	Tidak	(-)	(-)
8.	Asam oleanolat	95,996	21,887	100,00	7,879	Tidak	(+)	(+)
9.	Kuersetin	63,485	3,413	93,236	0,173	Ya	(-)	(+)
10.	Asam ursolat	95,996	21,862	100,00	8,008	Tidak	(+)	(+)
11.	Asam galat	53,697	13,849	65,385	0,348	Ya	(-)	(+)
12.	Katekin	66,708	0,657	100	0,395	Ya	(-)	(-)
13.	Apigenin	88,123	10,547	97,253	0,565	Ya	(+)	(+)
14.	Kaempferol	79,439	9,577	89,608	0,286	Ya	(-)	(+)
15.	Mirisetin	40,964	0,991	96,785	0,110	Ya	(-)	(+)

toksisitas (ADMEToks) dengan situs PreADMET. Pada parameter absorpsi didapatkan hampir semua senyawa uji menunjukkan % HIA dengan kategori baik (%HIA 70-100%) dan sedang (%HIA 20-70%) kecuali hiperosida yang menunjukkan hasil buruk (%HIA <20%) serta hampir semua senyawa uji menunjukkan nilai Caco2 dengan kategori sedang (nilai Caco2 4-70 nm/sec) kecuali galokatekin, kuersetin, katekin, dan mirisetin yang menunjukkan hasil rendah (nilai Caco2 <4 nm/sec). Pada parameter distribusi, dari 15 senyawa uji hanya senyawa asam elagat, hiperosida, asam galat, dan kaempferol yang memiliki nilai PPB < 90% yang mengindikasikan molekul pada senyawa tersebut memiliki ikatan yang lemah dengan protein plasma sehingga efikasi obat

dapat meningkat. Lalu untuk parameter BBB terdapat 10 senyawa yang tidak memiliki kemampuan untuk menembus sawar darah otak (nilai BBB <1). Obat antikanker payudara tidak didesain untuk menembus sawar otak, sehingga yang dipilih sebagai kandidat obat adalah senyawa dengan nilai BBB <1. Sementara itu, pada parameter toksisitas, dari 15 senyawa uji hanya senyawa lapatinib, beta sitosterol, hiperosida, asam oleanolat, dan asam ursolat yang menunjukkan sifat non mutagen serta hanya senyawa lapatinib, galokatekin, hiperosida, dan katekin yang menunjukkan hasil negatif karsinogenik pada mencit dan tikus, sedangkan senyawa lain menunjukkan hasil yang beragam.

3.3. Simulasi Penambatan Molekuler

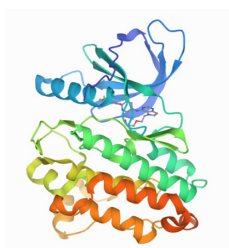
Penambatan molekuler merupakan teknik pemodelan molekuler yang digunakan untuk memprediksi bagaimana reseptor (enzim) berinteraksi dengan molekul kecil (ligan) untuk membentuk kompleks supramolekul, yang dapat meningkatkan atau menghambat fungsi biologisnya. Pada penelitian ini, reseptor yang digunakan yaitu protein HER2 dengan PDB ID 3PP0 seperti yang ditampilkan pada Gambar 1. Reseptor ini memiliki ligan alami 03Q. Pada preparasi ligan alami dan reseptor, didapatkan file .pdb dari ligan alami (03Q) dan file .pdb dari reseptor. Keempat belas ligan uji juga telah diminimalkan energinya dan disimpan dalam bentuk .pdb.

Validasi penambatan molekul dilakukan untuk memastikan bahwa proses penambatan molekuler dapat mencerminkan semirip mungkin dengan situasi fisiologis sesungguhnya yang terjadi di dalam tubuh manusia.²⁰ Pada Tabel 3 tertera hasil validasi yang menunjukkan reference RMSD yang bernilai ≤ 2 Å serta energi ikatan yang bernilai 66,55 μM . Diperoleh ukuran Grid Box yang dapat digunakan pada tahap simulasi penambatan molekuler selanjutnya.

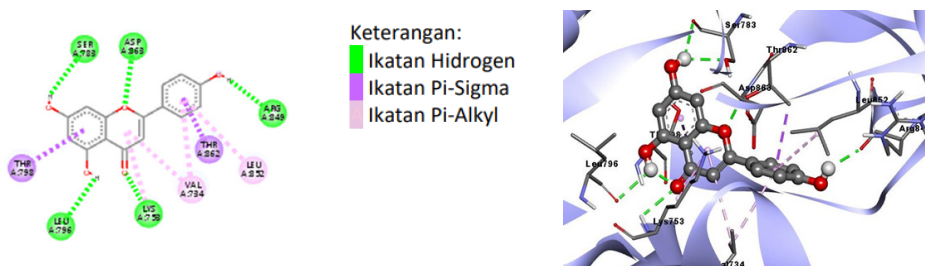
Berdasarkan hasil simulasi penambatan molekuler yang telah dilakukan, semua senyawa memiliki energi ikatan (ΔG) yang negatif dan konstanta inhibisi yang lebih kecil dibanding ligan alami. Lapatinib sebagai

obat pembanding ($\Delta G = -9,99$ kkal/mol; $K_i = 1,38$ μM) memiliki energi ikatan dan konstanta inhibisi yang lebih rendah dari ligan alami ($\Delta G = -8,08$ kkal/mol; $K_i = 66,55$ μM). Sementara itu, senyawa uji yang memiliki energi ikatan (ΔG) paling kecil adalah beta sitosterol dengan nilai ΔG sebesar -12,3 kkal/mol) dan konstanta inhibisi sebesar $3,536 \times 10^{-4}$ μM . Namun, senyawa beta sitosterol tidak memiliki interaksi dengan residu asam amino penting (asam amino kunci) melalui ikatan hidrogen. Berdasarkan studi literatur terhadap jurnal acuan asam amino kunci reseptor HER2 (PDB ID: 3PP0) membuktikan bahwa residu asam amino Leu852, Leu796, Val734, Met801, Leu800, Phe864, Thr862, Asp863, dan Thr798 adalah asam amino kunci di situs aktif target.²⁶ Senyawa yang memiliki interaksi dengan asam amino kunci terbanyak adalah apigenin melalui ikatan hidrogen dengan Leu796 serta ikatan lainnya dengan Thr798, Thr862, Val734, dan Leu852. Senyawa apigenin ini memiliki nilai energi ikatan (ΔG) -7,42 kkal/mol dan konstanta inhibisi 2,85 μM yang keduanya lebih kecil dibanding ligan alami.

Hasil simulasi penambatan molekuler kemudian divisualisasikan dalam bentuk 2D dan 3D menggunakan aplikasi BIOVIA Discovery Studio 2020. Visualisasi terhadap interaksi yang terjadi antara ligan uji apigenin dan reseptor disajikan dalam Gambar 2.

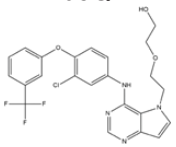


Gambar 1. Struktur Reseptor HER2 (PDB ID: 3PP0)



Gambar 2. Struktur Reseptor HER2 (PDB ID: 3PP0)

Tabel 3. Hasil Validasi

Ligan Alami	Energi Ikatan (kkal/mol)	Reference RMSD	Ki (μM)	Ukuran Grid Box	Koordinat Grid Box	Asam Amino
03Q 	-8,08	1,63	66,55	42×42×42	X = 16,622 Y = 17,394 Z = 26,218	Hydrogen Bond: Thr798; Gln799 Other Bond: Ser783, Arg784; Phe864; Leu796; Leu785; Lys753; Leu800; Leu852; Ala751; Leu726

4. Pembahasan

Profil kelarutan dan permeabilitas yang baik tentu sangat dibutuhkan dalam suatu penemuan oboat oral. Pada tahun 1997, Christopher A. Lipinski mengembangkan pedoman yang dikenal sebagai Aturan Lipinski atau *Rule of Five* (RO5) untuk mempercepat proses penemuan dan pengembangan obat yang didasarkan pada sifat kelarutan dan permeabilitas kandidat obat melalui jalur oral. Aturan Lipinski menetapkan beberapa kriteria yang harus dipenuhi oleh senyawa agar dianggap sebagai kandidat obat oral. Kriteria tersebut meliputi jumlah donor ikatan hidrogen yang kurang dari 5, jumlah akseptor ikatan hidrogen yang kurang dari 10, bobot molekul di bawah 500 Da, dan nilai MLogP (logaritma partisi oktanol-air) di bawah 4,15.¹⁴ MLogP atau koefisien partisi oktanol-air Moriguchi adalah metode berbasis struktur yang dikembangkan oleh Moriguchi et al. untuk memperkirakan nilai logP.¹⁴ Aturan Lipinski memberikan indikasi bahwa senyawa dengan bobot molekul lebih dari 500 Da dapat menghambat permeabilitas dalam sistem pencernaan dan sistem saraf pusat. Selain itu, lipofilisitas senyawa, yang diukur dengan logP, juga menjadi faktor penting. Log P merupakan nilai kelarutan suatu senyawa dalam pelarut oktanol dan air. Log P yang lebih kecil dari 5 mengindikasikan kemampuan senyawa untuk menembus membran sel yang terdiri dari *lipid bilayer*. Aturan Lipinski juga menyoroti pentingnya jumlah donor dan akseptor ikatan hidrogen. Senyawa dengan jumlah donor

ikatan hidrogen lebih dari 5 dan akseptor ikatan hidrogen lebih dari 10 cenderung kesulitan menembus membran *lipid bilayer* karena berpotensi terpartisi di dalam pelarut dengan ikatan hidrogen yang kuat, seperti air.^{14,15} Dari data yang disajikan pada Tabel 1, terlihat bahwa 13 dari 14 senyawa aktif yang ditemukan pada daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) memenuhi syarat aturan Lipinski (RO5), sehingga dapat dianggap sebagai kandidat potensial untuk pengembangan obat oral. Senyawa yang tidak memenuhi aturan Lipinski (RO5) adalah hiperosida dengan nilai *violation* yang diperoleh adalah 2 sedangkan syarat nilai *violation* yang baik adalah kurang dari 2. *Violation* tersebut yaitu jumlah donor ikatan hidrogen yang lebih dari 5 (donor ikatan hidrogen 8) dan jumlah akseptor ikatan hidrogen yang lebih dari 10 (akseptor ikatan hidrogen 12). Lapatinib sebagai senyawa pembanding memenuhi 4 dari 5 syarat aturan Lipinski (RO5). *Violation* yang dimiliki lapatinib yaitu bobot molekul yang lebih dari 500 Da dengan nilai 581,06 Da.

Dalam penemuan dan pengembangan obat, sifat adsorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi (ADME), serta toksisitas suatu obat adalah hal yang krusial untuk dievaluasi. Hal ini bertujuan untuk mencegah kemungkinan adanya masalah farmakokinetik pada obat. Dalam penelitian ini, beberapa parameter ADME dan toksisitas yang diperhatikan meliputi: Absorpsi usus manusia (*Human Intestinal Absorption/HIA*), permeabilitas sel Caco-2, ikatan protein plasma (*Plasma Protein*

Binding/PPB), sawar darah otak (*Blood Brain Barrier/BBB*), uji mutagenesis (*Ames Test*), dan karsinogenisitas.

Absorpsi usus manusia (HIA) dan permeabilitas sel Caco-2 adalah parameter yang digunakan untuk memprediksi tingkat adsorpsi. HIA mencerminkan sejauh mana suatu obat diserap oleh usus manusia yang dinilai sebagai persentase dari total penyerapan, termasuk bioavailabilitas dan absorpsi yang dievaluasi dari rasio ekskresi dalam urin, empedu, dan feses. Klasifikasi HIA dibagi menjadi tiga kategori: nilai 0-20% menunjukkan serapan yang rendah, 20-70% menunjukkan serapan yang cukup, dan 70-100% menunjukkan serapan yang baik.¹⁶ Di sisi lain, Caco-2 digunakan untuk memprediksi permeabilitas sel Caco-2 yang berasal dari adenokarsinoma usus besar manusia dan memiliki beberapa jalur transportasi obat melalui epitel usus. Nilai Caco-2 diinterpretasikan dengan kriteria bahwa nilai kurang dari 4 mengindikasikan permeabilitas rendah, 4-70 menunjukkan permeabilitas sedang, dan nilai lebih dari 70 menandakan permeabilitas tinggi.¹⁷ Hasil uji pada Tabel 2 menunjukkan bahwa sebagian besar senyawa yang diuji memiliki nilai HIA dalam kategori baik (menunjukkan serapan yang baik) diantaranya lapatinib (senyawa pembanding), aromadendren, beta sitosterol, kariopilen oksida, asam oleanolat, asam ursolat, apigenin, dan kaempferol, serta kategori sedang (menunjukkan serapan yang cukup) yaitu galokatekin, kuersetin, asam galat, katekin, dan mirisetin. Sementara itu, senyawa hiperosida menunjukkan serapan yang rendah (%HIA 11,777). Namun, untuk parameter Caco-2, beberapa senyawa menunjukkan tingkat permeabilitas sedang dengan rentang nilai 9-57 diantaranya lapatinib (senyawa pembanding), aromadendren, beta sitosterol, kariopilen oksida, asam elagat, hiperosida, asam oleanolat, asam ursolat, asam galat, apigenin, dan kaempferol.

Sawar darah otak (BBB) dan ikatan protein plasma (PPB) mewakili parameter prediksi distribusi. Parameter PPB menunjukkan derajat distribusi pengikatan protein dalam darah. Umumnya, hanya obat yang tidak

terikat yang tersedia untuk difusi atau transpor melintasi membran sel, dan juga untuk interaksi dengan target farmakologis. Klasifikasi PPB mencakup nilai > 90% untuk senyawa yang terikat kuat dengan plasma dan nilai < 90% untuk senyawa yang terikat lemah dengan plasma.¹⁸ Sementara itu, parameter BBB digunakan untuk menentukan sejauh mana suatu obat didistribusikan ke sawar otak. Nilai BBB < 1 menunjukkan senyawa memiliki kemampuan penetrasi terhadap sawar darah otak yang rendah, nilai 1 - 2 menunjukkan penetrasi sedang, dan nilai > 2 menunjukkan penetrasi tinggi.¹⁶ Senyawa obat yang ditargetkan untuk tidak memasuki SSP perlu memiliki nilai BBB yang rendah guna menghindari penetrasi terhadap sawar darah otak agar tidak terjadi efek samping yang tidak diinginkan. Berdasarkan hasil pengujian pada Tabel 2, diketahui dari 15 senyawa uji, hanya senyawa asam elagat, hiperosida, asam galat, dan kaempferol yang memiliki nilai PPB < 90%. Hal tersebut mengindikasikan molekul yang ada pada senyawa tersebut memiliki ikatan yang lemah dengan protein plasma sehingga efikasi obat dapat meningkat. Pada parameter BBB, 10 senyawa diketahui tidak memiliki kemampuan untuk menembus sawar darah otak, sedangkan 5 lainnya (aromadendren, beta sitosterol, kariopilen oksida, asam oleanolat, dan asam ursolat) memiliki kemampuan penetrasi yang tinggi.

Mutagenesis (*Ames Test*) dan karsinogenisitas mewakili parameter prediksi toksisitas. *Ames test* dilakukan untuk mengevaluasi apakah senyawa yang sedang diselidiki memiliki sifat mutagenik yang dapat menyebabkan mutasi pada DNA dalam sel, baik itu secara *in-vitro* maupun *in-vivo*, yang akan berdampak pada struktur DNA.¹⁹ Untuk prediksi toksisitas hampir semua senyawa yang diuji bersifat karsinogenik dan mutagenik. Hanya senyawa lapatinib dan hiperosida yang menunjukkan hasil negatif pada pengujian karsinogenik maupun mutagenik. Namun, hasil prediksi profil toksisitas pada senyawa apigenin yang merupakan kandidat terkuat menunjukkan hasil mutagenik serta karsinogenik pada mencit maupun tikus. Hasil

ini menunjukkan bahwa senyawa ini berpotensi menyebabkan kanker. Oleh karena itu, perlu dilakukan optimasi lebih lanjut terhadap struktur senyawa untuk menghilangkan sifat mutagenik pada senyawa uji sebelum dikembangkan menjadi obat. Hal ini dikarenakan respons mutagenik dari suatu senyawa dapat dipengaruhi oleh struktur kimia senyawa tersebut.

Setelah dilakukan prediksi ADME dan toksisitas, semua senyawa uji dilanjutkan pada tahap penambatan molekuler (*molecular docking*) yang merupakan teknik pemodelan molekuler untuk memprediksi interaksi yang terjadi antara protein dan molekul kecil (ligan). Kemampuan ligan dalam berinteraksi dengan protein target untuk membentuk kompleks supramolekul memiliki peran sentral dalam dinamika protein yang dapat memperkuat atau menghambat fungsi biologis dari protein tersebut. Dalam proses penambatan molekuler, perlu untuk dilakukan proses preparasi makromolekul dari reseptor serta validasi metode kimia komputasi. Hal ini dilakukan untuk memastikan bahwa proses penambatan molekuler dapat mencerminkan semirip mungkin dengan situasi fisiologis sesungguhnya yang terjadi di dalam tubuh manusia.²⁰

Validasi penambatan molekuler dilakukan dengan menambatkan kembali (*re-docking*) reseptor dan ligan alaminya. Proses ini melibatkan penggunaan struktur kristal protein yang diunduh dari *Protein Data Bank* (PDB) dengan kode 3PP0. Kode 3PP0 merupakan reseptor HER2 yang dapat membentuk kompleks dengan senyawa 03Q (ligan alami). Pemilihan reseptor ini juga didasarkan pada nilai resolusi yang tinggi sebesar 2,25 Å. Struktur protein yang memiliki resolusi tinggi (sekitar 1 Å) menunjukkan pengaturan yang teratur dari elektron dan memungkinkan setiap atom terlihat dengan jelas dalam peta kerapatan elektron. Sebaliknya, struktur protein dengan resolusi rendah (sekitar 3 Å atau lebih) mengindikasikan bahwa kontur rantai protein dan struktur atom hanya dapat diprediksi tanpa dapat dilihat secara langsung. Oleh karena itu, pemilihan struktur protein dengan resolusi kurang dari 2 Å

dianggap lebih disarankan dalam konteks ini.²¹

Umumnya struktur protein dari PDB mengandung molekul pelarut seperti air dan residu lainnya yang dapat mengganggu proses penambatan molekuler. Oleh karena itu, pada proses persiapan perlu dilakukan eliminasi terhadap molekul tersebut agar ligan dapat benar-benar berinteraksi dengan reseptor. Selain itu, protein yang diperoleh *database* PDB umumnya dipreparasi menggunakan metode *X-ray diffraction* dimana jika atom hidrogen melewati eksperimen ini, hidrogen tersebut tidak akan terlihat. Maka dari itu pada tahap preparasi perlu juga dilakukan penambahan hidrogen ke dalam protein. Hal ini bertujuan agar saat simulasi penambatan molekuler, letak hidrogen pada struktur berada di posisi optimal yang diinginkan dari atom-atom tersebut dan dapat ditentukan secara energetik.²²

Reseptor 3PP0 dan ligan alami yang telah dipisahkan dan dipreparasi pada proses persiapan dilanjutkan pada tahap validasi dengan melakukan *re-docking* menggunakan aplikasi *AutoDock Tools-1.5.6*. Pada tahap ini digunakan ukuran *grid box* untuk mengetahui konformasi energi terendah dari ligan. *Grid box* yang digunakan yaitu X=42; Y=42; dan Z=42 dengan *grid coordinate* X=16,622; Y=17,394; dan Z=26,218. Koordinat ini berguna dalam memposisikan ligan supaya berada di dalam kantung aktif reseptor HER2. Hasil validasi terhadap metode penambatan molekuler ditunjukkan pada Tabel 3, dimana diperoleh hasil *re-docking* dengan nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*) sebesar 1,63. RMSD adalah jarak penyimpangan dari posisi ikatan ligan alami dengan suatu protein yang sudah dilakukan penambatan terhadap posisi ikatan ligan alami yang sebenarnya. Suatu proses validasi dikatakan baik jika memiliki nilai RMSD tidak lebih atau sama dengan 2.23 Hasil dari penambatan ligan alami 03Q menunjukkan ikatan dengan asam amino kunci yaitu Thr798, Leu796, Leu800, dan Leu852 serta ikatan lainnya yaitu Gln799, Ser783, Arg784, Phe864, Leu785, Lys753, Ala751, dan Leu726. Setelah metode divalidasi, proses penambatan molekuler terhadap senyawa

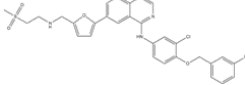
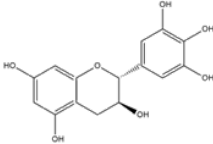
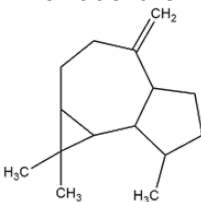
aktif dari daun *Psidium guajava* L. dan juga ligan pembanding dapat dilakukan dengan menggunakan *grid box* dan *grid coordinate* yang sudah didapatkan pada tahap validasi sebagai letak posisi senyawa yang akan berikatan dengan reseptor HER2 (3PP0).

Simulasi penambatan molekuler dilakukan pada senyawa uji dari daun jambu biji dan juga ligan pembanding yaitu lapatinib yang merupakan obat anti kanker payudara dan paru-paru yang bekerja pada reseptor HER2. Proses ini bertujuan untuk memperoleh konformasi interaksi dan nilai afinitas terbaik dari senyawa aktif daun jambu biji yang berpotensi pada situs aktif reseptor HER2 (3PP0). Parameter yang dievaluasi pada tahap ini meliputi energi bebas Gibbs (kkal/mol), konstanta inhibisi (μM), dan interaksi yang terbentuk antara molekul senyawa uji dengan residu asam amino.

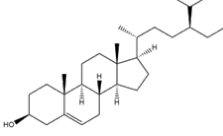
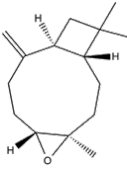
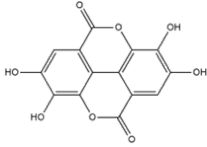
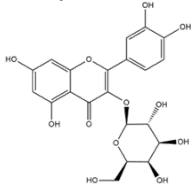
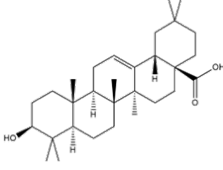
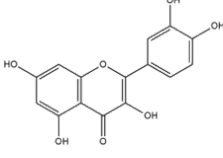
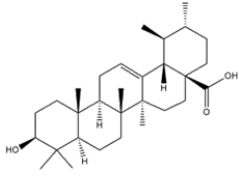
Hasil penambatan molekuler dari Tabel

4 menunjukkan bahwa beberapa senyawa aktif daun jambu biji memiliki afinitas ikatan lebih tinggi dibanding ligan alami pada reseptor 3PP0 yaitu 03Q yang ditunjukkan dari nilai energi bebas Gibbs dan konstanta inhibisinya yang lebih kecil. Semakin negatif nilai energi bebas Gibbs yang dilepaskan ketika suatu senyawa berinteraksi dengan reseptor, maka akan semakin kuat pula interaksi kompleks senyawa-reseptor yang terbentuk. Hal tersebut menunjukkan bahwa ikatan antara reseptor dengan senyawa aktif daun jambu biji lebih kuat dibanding ikatan reseptor dengan ligan alaminya. Terjadinya stabilitas pada senyawa dan reseptor serta peningkatan pada interaksi non-kovalen mempermudah sel untuk masuk dan menghambat replikasi DNA dimana proses metabolismenya mengakibatkan kematian sel. Nilai pada energi bebas Gibbs ikatan (ΔG) akan sebanding dengan nilai konstanta

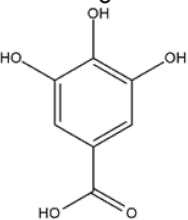
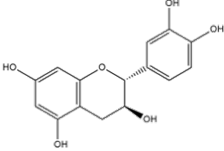
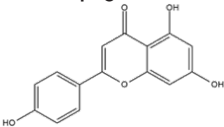
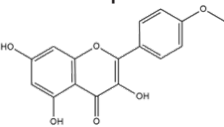
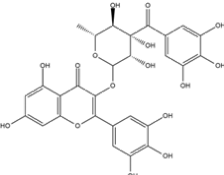
Tabel 4. Luaran Simulasi Penambatan Molekuler

No	Senyawa	Cluster Rank	Energi Ikatan (kkal/mol)	Ki (μM)	Interaksi dengan asam amino		
					Ikatan hidrogen	Ikatan van der Waals	Lain-lain
1.	Lapatinib (Senyawa Pembanding) 	1	-9,99	1,38	Ser783 Cys805 Arg849 Thr862	-	Carbon Hydrogen Bond (Asp863); Halogen (Leu796, Val797); Pi-Sigma (Thr798, Val734, Leu726); Pi-Alkyl (Lys753, Ala751, Leu852)
2.	Galokatekin 	2	-6,86	5,62	Leu796 Arg849 Asn850 Asp863	-	Pi-Anion (Asp863); Unfavorable Donor-Donor (Lys753); Alkyl dan Pi-Alkyl (Ala751, Lys753, Val734, Leu852)
3.	Aromadendren 	1	-7,52	2,35	-	-	Alkyl (Leu726, Leu852, Val734, Cys805)

Tabel 4. Luaran Simulasi Penambatan Molekuler

No	Senyawa	Cluster Rank	Energi Ikatan (kkal/mol)	Ki (μM)	Interaksi dengan asam amino		
					Ikatan hidrogen	Ikatan van der Waals	Lain-lain
4.	Beta sitosterol 	1	-12,30	$3,536 \times 10^{-4}$	-	-	Carbon Hydrogen Bond (Leu726); Alkyl dan Pi-Alkyl (Met774, Leu726, Leu785, Leu852, Lys753, Val734, Ala751, Cys805)
5.	Kariopilen oksida 	1	-8,42	0,624	-	-	Alkyl dan Pi-Alkyl (Lys753, Phe864, Leu785, Leu796, Ala771, Met774)
6.	Asam elagat 	1	-7,60	1,9	Met801 Asp863	-	Pi-Sigma (Leu852, Leu726, Val734); Pi-Alkyl (Ala751)
7.	Hiperosida 	1	-8,93	$4,168 \times 10^{-2}$	Leu796 Ser728	-	Unfavorable Donor-Donor (Lys753); Pi-Sigma (Thr862); Pi-Alkyl (Ala751, Leu852, Val734)
8.	Asam oleanolat 	1	-6,90	7,92	-	-	Alkyl (Ala751, Arg849, Cys805, Leu726, Leu785, Leu796, Leu852, Lys753, Val734)
9.	Kuersetin 	2	-7,42	2,66	Glu770 Ser783 Thr798	-	Pi-Donor Hydrogen Bond (Thr862); Pi-Sigma (Leu796); Pi-Pi T-Shaped (Phe864); Pi-Alkyl (Leu785, Lys753, Met774, Val734)
10.	Asam ursolat 	1	-3,99	1,13	-	-	Pi-Alkyl (Val725); Alkyl (Tyr735)

Tabel 4. Luaran Simulasi Penambatan Molekuler

No	Senyawa	Cluster Rank	Energi Ikatan (kkal/mol)	Ki (μM)	Interaksi dengan asam amino		
					Ikatan hidrogen	Ikatan van der Waals	Lain-lain
11.	Asam galat 	4	-2,39	4,22	Tyr735 Ser728	-	-
12.	Katekin 	2	-3,20	2,01	Ser728 Tyr735 Leu726	-	Pi-Alkyl (Val725)
13.	Apigenin 	2	-7,42	2,85	Ser783 Asp863 Arg849 Lys758 Leu796	-	Pi-Sigma (Thr798, Thr862); Pi-Alkyl (Lys758, Val734, Leu852)
14.	Kaempferol 	4	-7,15	4,03	Lys758 Asp863 Glu770	-	Pi-Sigma (Leu785); Pi-Alkyl (Ala751, Val734, Leu796, Met774); Pi-Pi T-shaped (Phe864)
15.	Mirisetin 	2	-6,78	3,58	Asp863 Lys753 Gln799 Met801	-	Carbon Hydrogen Bond (Asp863); Pi-Sigma (Leu852); Pi-Alkyl (Leu796, Val734, Ala751)

inhibisinya (Ki). Nilai Ki menginterpretasikan afinitas antara senyawa serta penguraian yang terjadi. Semakin kecil nilai Ki maka kesetimbangan dari reaksi yang terjadi akan bergerak ke arah pembentukan kompleks senyawa dengan reseptor. Kompleks dari senyawa berpotensi untuk membentuk suatu ikatan dengan reseptor. Apabila terdapat nilai Ki dalam skala nonmolar, yang artinya nilai afinitas yang dimiliki baik.²⁴ Hubungan antara energi bebas ikatan dan konstanta inhibisi dengan afinitas pengikatan adalah untuk melihat kemampuan ikatan antara suatu

obat atau senyawa dengan reseptornya. Berdasarkan hasil simulasi penambatan molekuler yang telah dilakukan, semua senyawa memiliki energi ikatan (ΔG) yang negatif dan konstanta inhibisi yang lebih kecil dibanding ligan alami. Lapatinib sebagai obat pembanding ($\Delta G = -9,99$ kkal/mol; Ki = 1,38 μM) memiliki energi ikatan dan konstanta inhibisi yang lebih rendah dari ligan alami ($\Delta G = -8,08$ kkal/mol; Ki = 66,55 μM). Sementara itu, senyawa uji yang memiliki energi ikatan (ΔG) paling kecil adalah beta sitosterol dengan nilai ΔG sebesar -12,3 kkal/

mol) dan konstanta inhibisi sebesar $3,536 \times 10^{-4} \mu\text{M}$.

Visualisasi ligan uji berupa senyawa dan ligan pembanding berupa obat pembanding merupakan bagian analisis dari simulasi penambatan molekul. Hasil visualisasi dapat berupa interaksi antara asam amino dengan ligan. Interaksi tersebut dapat menjadi prediksi adanya kemungkinan kontak antara reseptor HER2 dengan ligan yang artinya terdapat aktivitas penghambatan pada reseptor HER2. Residu-residu asam amino yang ditunjukkan oleh area ikatan atau *binding site* akan memberikan pengaruh pada pembuatan interaksi antara ligan dengan makromolekul, seperti ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik, dan ikatan elektrostatik sebagai residu-residu asam amino.

Ikatan yang memiliki dampak paling signifikan dalam interaksi antara ligan dan reseptor adalah ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen antara ligan uji dengan residu asam amino yang sama pada ligan alami atau ligan pembanding menunjukkan kemiripan jenis interaksi (aktivitas yang sama). Semakin banyak ikatan hidrogen antar molekul maka semakin stabil juga ikatan tersebut. Jika ligan uji membentuk ikatan hidrogen dengan residu asam amino yang sama seperti ligan alami atau ligan pembanding, hal ini mengindikasikan kesamaan dalam jenis interaksi dan aktivitas. Kemiripan jenis interaksi dan aktivitas yang sama mengindikasikan bahwa ligan uji memiliki kemampuan untuk berinteraksi dengan protein target seperti halnya ligan alami atau ligan pembanding. Ini bisa menjadi indikasi bahwa ligan uji memiliki potensi sebagai obat atau molekul terapeutik dengan aktivitas serupa. Kekuatan ikatan hidrogen mencapai puncaknya ketika molekul berada dalam orientasi yang maksimal pada interaksi elektrostatik. Peran interaksi hidrofobik dan elektrostatik adalah meningkatkan stabilitas konformasi ligan terhadap reseptor. Interaksi hidrofobik melibatkan hubungan yang menghindari lingkungan cair dan cenderung berkumpul dalam struktur globular protein. Sementara itu, interaksi elektrostatik bersifat lemah dan non-kovalen, sehingga cenderung mudah lepas, namun dalam jumlah yang

banyak, interaksi ini dapat memberikan kontribusi signifikan dalam membentuk konformasi protein.²⁵

Penelitian pada reseptor HER2 (PDB ID: 3PP0) membuktikan bahwa residu asam amino Leu852, Leu796, Val734, Met801, Leu800, Phe864, Thr862, Asp863, dan Thr798 adalah asam amino kunci di situs aktif target.²⁶ Residu asam amino tersebut menjadi acuan perbandingan antara residu asam amino yang dapat berikatan dengan ligan uji yang merupakan senyawa pada daun jambu biji yang berpotensi dalam penghambatan reseptor HER2. Hasil dari penambatan molekul pada Tabel 4 menunjukkan bahwa terdapat beberapa senyawa aktif pada daun jambu biji telah berinteraksi dengan protein reseptor HER2 yang terjadi pada residu asam amino kunci melalui ikatan hidrogen. Interaksi residu asam amino pada ikatan hidrogen yang terjadi sama halnya dengan interaksi antara ligan alami (O3Q) dengan reseptor HER2. Hal ini menunjukkan bahwa sisi aktif tempat ligan alami dan senyawa daun jambu biji, berikatan pada tempat yang sama dan diharapkan dapat memberikan afinitas yang sama dalam penghambatan kerja dari reseptor HER2. Senyawa yang memiliki interaksi dengan asam amino kunci terbanyak adalah apigenin melalui ikatan hidrogen dengan Leu796 serta ikatan lainnya dengan Thr798, Thr862, Val734, dan Leu852. Senyawa apigenin ini juga memiliki nilai energi ikatan (ΔG) $-7,42 \text{ kkal/mol}$ dan konstanta inhibisi $2,85 \mu\text{M}$ yang keduanya lebih kecil dibanding ligan alami. Hal ini menunjukkan bahwa apigenin mampu berikatan dengan 5 asam amino penting dengan afinitas ikatan yang baik dan memerlukan konsentrasi yang sedikit untuk dapat menurunkan aktivitas HER2 sebanyak 50%.

5. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian pada studi *in-silico* untuk aktivitas senyawa aktif daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) dalam menghambat reseptor HER2, diketahui bahwa senyawa yang paling potensial untuk dijadikan kandidat antikanker adalah senyawa apigenin dengan nilai energi bebas Gibbs yang cukup

rendah yaitu -7,42 kkal/mol, memiliki aktivitas penghambatan yang cukup baik dengan nilai konstanta inhibisi (Ki) sebesar 2,85 μM , serta mampu berinteraksi dengan protein reseptor HER2 (3PP0) pada residu asam amino kunci melalui ikatan hidrogen dengan Leu796 serta ikatan lainnya dengan Thr798, Thr862, Val734, dan Leu852. Selain itu, apigenin memenuhi aturan Lipinski sehingga aman untuk diadministrasikan secara oral serta memiliki profil farmakokinetik yang baik dengan nilai HIA 88,123%; Sel Caco-2 10,547 nm/detik; PPB 97,253%; dan BBB 0,565. Namun, pada prediksi toksisitas senyawa ini menunjukkan hasil mutagenik dan karsinogenik baik pada mencit maupun tikus. Maka dari itu, perlu dilakukan optimasi lebih lanjut pada struktur senyawa untuk menghilangkan sifat mutagenik dan karsinogenik pada senyawa uji. Tanaman daun jambu biji (*Psidium guajava* L.) memberikan hasil yang potensial untuk menjadi obat antikanker payudara. Namun, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terkait isolasi senyawa aktif juga dilakukan pengujian aktivitas secara *in-vitro* maupun *in-vivo* untuk memastikan aktivitasnya terhadap sel kanker payudara.

Daftar Pustaka

1. World Health Organization (WHO). Cancer [Diunduh pada 04 Maret 2022]. Tersedia dari: https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1.
2. Kemenkes RI. Kanker Payudara Paling Banyak di Indonesia, Kemenkes Targetkan Pemerataan Layanan Kesehatan [Diunduh pada 4 Maret 2022]. Tersedia dari: <https://sehatnegeriku.kemkes.go.id/baca/umum/20220202/1639254/kanker-payudara-paling-banyak-di-indonesia-kemenkes-targetkan-pemerataan-layanan-kesehatan/#:~:text=Kanker%20payudara%20menempati%20urutan%20pertama,kasus%20baru%20kanker%20di%20Indonesia.>
3. Warjianto W, Soewoto W, Alifianto U, Wujoso H. Hubungan Reseptor Estrogen, Reseptor Progesteron dan Ekspresi Her-2/Neu Dengan Grading Histopatologi pada Pasien Kanker Payudara di RSUD dr. Moewardi Surakarta. *Smart Medical Journal*. 2020; 3(2).
4. Iqbal N, and Iqbal N. Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2) in Cancers: Overexpression and Therapeutic Implications. *Molecular Biology International*. 2014;1–9.
5. Budino TA. Targeted Cancer Therapy: The Next Generation of Cancer Treatment. *Current Drug Discovery Technologies*. 2015;12(1): 3-20.
6. Eustace AJ, Conlon NT, McDermott MSJ, Browne BC, O'Leary P, Holmes FA, et al. Development of acquired resistance to lapatinib may sensitize HER2-positive breast cancer cells to apoptosis induction by obatoclax and TRAIL. *BMC Cancer*. 2018;18(1): 965.
7. Yallowitz A, Ghaleb A, Garcia L, Alexandrova EM, Marchenko N. Heat shock factor 1 confers resistance to lapatinib in ERBB2-positive breast cancer cells. *Cell death & disease*. 2018;9(6):621.
8. Wink M. Modes of Action of Herbal Medicines and Plant Secondary Metabolites. *Medicines* (Basel). 2015;2(3):251-86.
9. Ravi K, and Divyashree P. *Psidium guajava*: A review on its potential as an adjunct in treating periodontal disease. *Pharmacognosy reviews*. 2014;8(16):96.
10. Dwitiyanti. Daun Jambu Biji (*Psidium guajava* L.) sebagai Antikanker Payudara. *Pharm Sci Res*. 2015;2(2):79-88.
11. Zhu Y, Mao Y, Chen H, Lin Y, Hu Z, Wu J, et al. Apigenin promotes apoptosis, inhibits invasion and induces cell cycle arrest of T24 human bladder cancer cells. *Cancer Cell International*. 2013;13(1):54.
12. Passini E, Britton OJ, Lu HR, Rohrbacher J, Hermans AN, Gallacher DJ, et al. Human In Silico Drug Trials Demonstrate Higher Accuracy than Animal Models in Predicting Clinical Pro-Arrhythmic Cardiotoxicity. *Frontiers in physiology*. 2017;8:668.
13. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney FJ. Experimental and Computational Approaches to Estimate Solubility and Permeability in Drug

- Discovery and Development Settings. Reviews. 1997; 23: 3-25.
14. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development q settings. 2001; 46: 3-26.
 15. Pollastri MP. Overview on the Rule of Five. Current Protocols in Pharmacology. 2010;49:9.12.1-9.12.8.
 16. Prasetiawati R, Suherman M, Permana B, Rahmawati. Molecular Docking Study of Anthocyanidin Compounds Against Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) as Anti-Lung Cancer. IJPST. 2021;8(1): 8-20.
 17. Nursamsiar, Toding AT, Awaluddin A. Studi In Silico Senyawa Turunan Analog Kalkon dan Pirimidin sebagai Antiinflamasi: Prediksi Absorpsi, Distribusi, dan Toksisitas. Pharmacy. 2016; 13(1): 92–100.
 18. Smith SA, and Waters NJ. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Considerations for Drugs Binding to Alpha-1-Acid Glycoprotein. Pharm Res. 2019;36(30): 1-19.
 19. Levy DD, Zeiger E, Escobar PA, Hakura A, Leede BJ, Kato M, Moore MM, Sugiyama K. Recommended criteria for the evaluation of bacterial mutagenicity data (Ames test). MRGTEM. 2019;848.
 20. Roy S, Kumar A, Baig MH, Masarik M, Provaznik I. Virtual screening, ADMET profiling, molecular docking and dynamics approaches to search for potent selective natural molecules based inhibitors against metallothionein-III to study Alzheimer's disease. Epub. 2015;15(10): 83-105.
 21. Arba M. Buku Ajar Farmasi Komputasi. Yogyakarta: Deepublish; 2019.
 22. Muttaqin FZ, Ismail H, Muhammad HN. Studi Molecular Docking, Molecular Dynamic, dan Prediksi Toksisitas Senyawa Turunan Alkaloid Naftiridin sebagai Inhibitor Protein Kasein Kinase 2-a pada Kanker Leukimia. Pharmacoscript. 2019;2(1):49-64
 23. Nauli T. Penentuan Sisi Aktif Selulase *Aspergillus Niger* dengan Docking Ligan. JKTI. 2014; 16(2).
 24. Mardianingrum R, Herlina T, Supratman U. Isolasi dan Molecular Docking Senyawa 6,7-Dihidro-17-Hidroksierisotrin dari Daun Dadap Belendung (*Erythrina poeppigiana*) terhadap Aktivitas Sitotoksik Antikanker Payudara MCF-7. Jurnal Chimica et Natura Acta. 2015;3(3):90-93.
 25. Naufa, F., R. Mutiah, Y. Yen and A. Indrawijaya. Studi in Silico Potensi Senyawa Katekin Teh Hijau (*Camellia Sinensis*) Sebagai Antivirus SARS CoV-2 Terhadap Spike Glycoprotein (6LZG) Dan Main Protease (5R7Y). J.Food Pharm.Sci. 2022;10(1):584–596.
 26. Cao Y, Khan A, Mirzaei H, Reza KS, Javan M, Albadarin AB, et al. Investigations of adsorption behavior and anti-cancer activity of curcumin on pure and platinum-functionalized B12N12 nanocages. Journal of Molecular Liquids. 2021;334: 116516.