



Studi *In-Silico* Senyawa Luteolin sebagai Kandidat Obat Antikanker Payudara

Shafa Noer*, Muhammad Farruq Khairullah
 Program Studi Pendidikan Biologi, Universitas Indraprasta PGRI
 * E-mail: shafa_noer@yahoo.co.id

Info Artikel

Kata kunci:

Luteolin, Obat, Antikanker, *In-Silico*

Abstrak

Kanker merupakan penyakit yang menyumbang angka kematian besar di dunia. Kanker payudara merupakan kejadian kanker tertinggi yang ada di Indonesia. Berbagai obat antikanker yang telah ada dinilai belum maksimal dalam mengatasi permasalahan penyakit ini, sehingga perlunya dikembangkan obat baru yang lebih efektif dan efisien. Keterbatasan penelitian tentang potensi obat antikanker diakibatkan karena panjangnya alur penelitian dan kompleksnya prosedur penelitian yang harus dilakukan untuk menentukan potensi antikanker dari suatu tanaman atau senyawa tertentu. Pendekatan *In-Silico* atau simulasi molekuler menggunakan perangkat bioinformatika dapat digunakan untuk mempersingkat dan menyederhanakan proses penelitian penentuan kandidat potensial obat. Tujuan penelitian ini adalah untuk memprediksi apakah Luteolin, yaitu salah satu senyawa yang terkandung dalam beberapa tanaman herbal, berpotensi digunakan sebagai antikanker. Metode penelitian ini adalah penelitian eksperimental menggunakan pendekatan secara *In-Silico*. Lima tahapan yang dilakukan dalam penelitian ini adalah: penyiapan struktur dan analisis senyawa alami sebagai potensi obat, identifikasi protein target dari senyawa alami, pemodelan dan validasi struktur 3 dimensi protein target, *molecular docking*, dan yang terakhir adalah analisis kemiripan obat, farmakokimia, fisikokimia, dan toksisitas senyawa alami kandidat obat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa *luteolin* memiliki potensi digunakan sebagai kandidat obat antikanker. Namun ditemukan juga bahwa senyawa ini dapat menyebabkan karsinogen dan mutagen sehingga perlu dilakukan penelitian lebih mendalam terkait hal tersebut.

PENDAHULUAN

Kanker merupakan penyakit kedua terbanyak di dunia (Chimed *et al.*, 2017). *World Health Organization* menyatakan bahwa terdapat 14 juta kasus kanker di dunia pada tahun 2015 dan angka kematian mencapai 8,2 juta jiwa setiap tahunnya (Marthasari dkk, 2022). Data kematian tersebut meningkat di tahun 2018, yaitu mencapai 9,6 juta jiwa setiap tahun (WHO, 2023).

Kanker payudara merupakan kejadian kanker terbesar di Indonesia melebihi kanker serviks dan jenis kanker lainnya. Data WHO menunjukkan bahwa pada tahun 2018 kejadian kanker payudara di Indonesia mencapai 16,7% dari total keseluruhan kejadian kanker. Tingkat kematian yang diakibatkan oleh kanker payudara mencapai 11% (WHO, 2020). Tingginya tingkat kejadian dan kematian yang diakibatkan oleh kanker payudara di Indonesia tentu saja menjadi perhatian yang serius di dunia kesehatan. Berbagai upaya telah dilakukan oleh berbagai pihak yang terkait termasuk pencarian obat untuk mengatasi penyakit ini.

Obat-obatan sintesis kimia telah banyak digunakan secara umum untuk menangani penyakit kanker. Namun berbagai data menunjukkan bahwa obat-obat ini memiliki efek samping bagi tubuh seperti menyebabkan muntah, diare, kerontokan rambut, dan insomnia (Fauziah dkk, 2023). Untuk menghadapi masalah efek samping obat kimiawi, banyak orang telah beralih kepada pengobatan herbal. Tanaman herbal dipercaya menjadi sumber potensial untuk pengembangan obat baru yang lebih efektif dan lebih sedikit menimbulkan efek samping. Namun tentu saja berbagai tahapan seperti karakterisasi, pemurnian, optimasi dan sederetan langkah lainnya perlu dilakukan untuk dapat menjadikan kandidat obat yang berasal dari tanaman menjadi obat yang dapat dikonsumsi dengan aman.

Panjangnya alur penelitian dan kompleksnya prosedur penelitian yang harus dilakukan untuk menentukan potensi antikanker dari suatu tanaman atau senyawa tertentu menjadikan pencarian senyawa obat antikanker termasuk kanker payudara menjadi sangat lambat ditemukan. Pendekatan *in-silico* atau simulasi molekuler menggunakan perangkat bioinformatika dapat digunakan untuk mempersingkat dan menyederhanakan proses penelitian penentuan kandidat potensial obat. Penelitian berbasis bioinformatika atau *in-silico* merupakan salah satu metode skrining dalam menemukan potensi senyawa aktif dari tanaman herbal. Pemanfaatan bioinformatika sebagai prediksi awal dalam pencarian senyawa bioaktif telah menjadi peluang besar karena memberikan kemudahan berupa efisiensi biaya dan menghemat waktu dibandingkan dengan penelitian secara *in-vitro* dan *in-vivo* (Adriani, 2018).

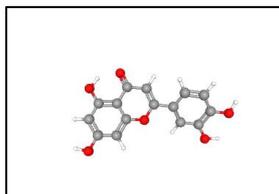
Luteolin merupakan salah satu senyawa golongan flavonoid yang terkandung dalam beberapa tanaman herbal. Dari beberapa penelitian sebelumnya, senyawa ini dipercaya berpotensi berperan sebagai senyawa antikanker (Imran *et al*, 2019). Tujuan penelitian ini adalah untuk melihat secara *in-silico* apakah senyawa luteolin yang banyak terkandung dalam tanaman herbal berpotensi digunakan sebagai kandidat obat anti kanker payudara.

METODE PENELITIAN

Metode yang dipakai ialah penelitian eksperimental menggunakan pendekatan *molecular docking* secara *In-Silico*. Lima tahapan yang dilakukan dalam penelitian ini adalah : penyiapan struktur dan analisis senyawa alami sebagai potensi obat (menggunakan PubChem dan PASSonline / way2drug), identifikasi protein target dari senyawa alami (menggunakan Swiss Target Prediction), pemodelan dan validasi struktur 3 dimensi protein target (menggunakan web SWISS, SAVES web server, dan PyMOL) *molecular docking* (menggunakan aplikasi Pyrx), dan yang terakhir adalah analisis kemiripan obat, farmakokimia, fisikokimia, dan toksisitas senyawa alami kandidat obat (menggunakan web server SwissADME dan ProTox II).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Langkah pertama yang dilakukan pada penelitian ini adalah menelusuri senyawa luteolin pada *database*. Database yang digunakan adalah PubChem dari NCBI (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>). Struktur yang didapatkan dalam *database* menunjukkan bahwa luteolin adalah sebuah tetrahidroksiflavon di mana empat gugus hidroksinya terletak pada posisi 3', 4', 5 dan 7 (Gambar 1).



Gambar 1. Struktur Luteoline
(Sumber : PubChem, 2023)

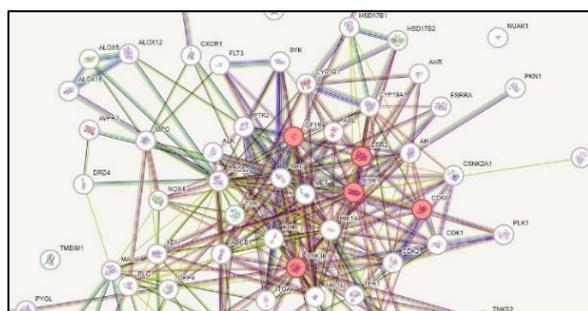
Data lainnya yang diambil dari database yang akan digunakan untuk analisis selanjutnya adalah *Canonical Smiles* dari senyawa luteolin. *Canonical Smiles* adalah versi khusus dari SMILES di mana setiap string SMILES secara unik mengidentifikasi struktur molekul tunggal. SMILES sendiri merupakan singkatan dari *simplified molecular-input line-entry system* yaitu suatu bentuk dalam format notasi baris untuk memvisualisasikan struktur kimia menggunakan string ASCII pendek. Berikut adalah *Canonical Smiles* senyawa luteolin yang didapat dari *database* : C1=CC(=C(C=C1)C2=CC(=O)C3=C(C=C(C=C3O2)O)O)O.

Langkah selanjutnya adalah melakukan prediksi apakah benar bahwa senyawa tersebut terlibat dalam *antineoplastic*/antikanker. Web yang digunakan untuk memperkirakan kemungkinan ini adalah PASS online (<http://www.way2drug.com/passonline/>). Dalam Pass online didapatkan data bahwa senyawa luteolin berpotensi digunakan sebagai inhibitor pada beberapa enzim dan berpotensi sebagai anti pada beberapa penyakit tertentu, termasuk sebagai *antineoplastic* pada kanker payudara (Gambar 2).

0,081	0,002	Glutathione-S-transferase inhibitor
0,693	0,016	Oxidoreductase inhibitor
0,690	0,020	Glutathione thioesterase inhibitor
0,680	0,010	Ecdysone 20-monooxygenase inhibitor
0,672	0,007	Antineoplastic (breast cancer)
0,672	0,007	Steroid N-acetylglucosaminyltransferase inhibitor
0,681	0,017	2-Hydroxyquinoline 8-monooxygenase inhibitor
0,672	0,010	Antiprotozoal (Leishmania)
0,662	0,002	REL A expression inhibitor
0,682	0,023	Feruloyl esterase inhibitor
0,672	0,016	CYP2B6 substrate
0,662	0,006	5-Hydroxytryptamine release inhibitor
0,659	0,004	Mediator release inhibitor

Gambar 2. Prediksi Potensi Senyawa Luteolin
(Sumber : PASS online, 2023)

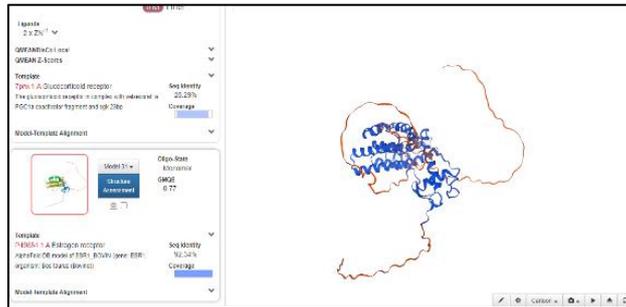
Langkah selanjutnya ialah melakukan identifikasi terhadap protein target dengan beberapa web yang digunakan seperti Pharmed (http://lilab-ecust.cn/pharmed/index.html), Super-Pred (<https://prediction.charite.de/>), dan SWISS target (<http://swisstargetprediction.ch/>). Dari analisis beberapa web tersebut didapatkan hasil bahwa ESR1 merupakan protein target yang sesuai dan berpotensi digunakan dalam penelitian ini serta memiliki hubungan antara protein-protein yang lain. Melalui web STRING (<https://string-db.org/>), dapat dilihat juga bahwa ESR1 memiliki keterikatan antar protein.



Gambar 3. Hubungan ESR1 dengan Protein lainnya
(Sumber : STRING, 2023)

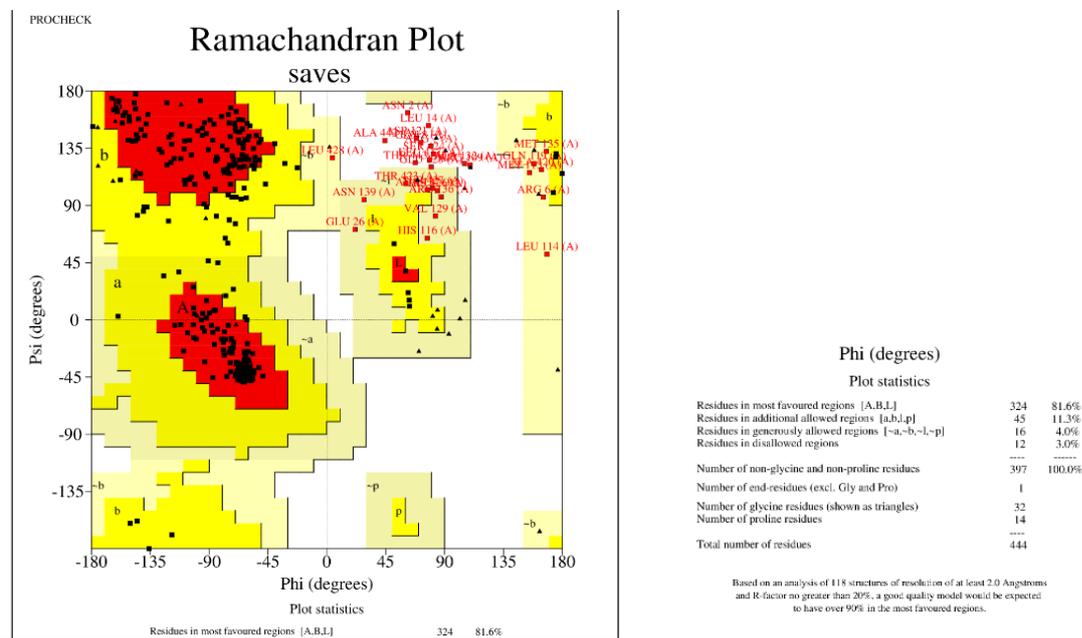
Kemudian dilakukan juga hasil pemodelan struktur dari protein target ESR1 menggunakan web SWISS model (<https://swissmodel.expasy.org/>) (Gambar 4) dan aplikasi PyMOL. Pemodelan struktur ini berguna untuk menggambarkan mekanisme kerja dan fungsi biologis dari protein target (Saudale, 2020). Penentuan struktur secara umum dilakukan menggunakan kristalografi sinar-X (Shi, 2014), namun metode ini relatif sulit, mahal dan

memakan waktu yang lama (Slabinski *et al.*, 2007). Kehadiran bioinformatika dapat mempermudah proses pemodelan struktur ini menjadi lebih cepat dan fleksibel.



Gambar 4. Pemodelan Struktur Protein ESR1
(Sumber : SWISS model, 2023)

Model yang telah didapatkan kemudian divalidasi menggunakan web SAVES (<https://saves.mbi.ucla.edu/>) dan didapatkan hasil *Ramachandran Plot* (Gambar 5). *Ramachandran Plot* adalah visualisasi secara matematis dari sebuah fungsi yang terdiri dari empat kuadran dan empat daerah yaitu *most favoured regions*, *additional allowed regions*, *generously allowed region*, dan *disallowed regions*. Suatu struktur protein dapat dikatakan mempunyai kualitas yang baik jika jumlah plot residu yang terdapat pada *disallowed regions* kurang dari 0,8% dan memiliki jumlah plot residu pada *most favoured region* lebih dari 90% dan R-factor tidak lebih dari 20% (Gunasekaran *et al.*, 1996).

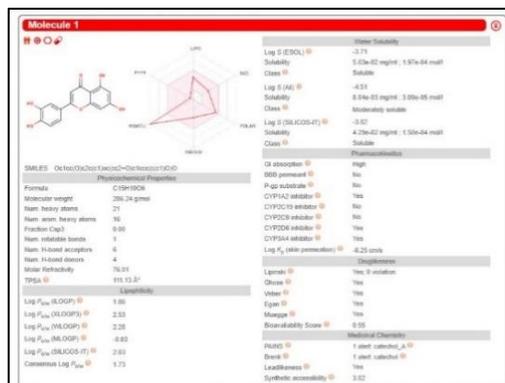


Gambar 5. Hasil Ramachandran Plot Protein Target
(Sumber : SAVES , 2023)

Tahapan selanjutnya adalah melakukan *docking* antara senyawa luteolin dan protein target (ESR1) menggunakan aplikasi Pyrx. Data yang diamati adalah nilai *binding affinity*. *Binding affinity* menunjukkan energi terkecil yang digunakan oleh reseptor untuk berinteraksi dengan ligan. Interaksi antara ligan dan reseptor dikatakan semakin stabil jika nilai *binding*

affinity nya semakin kecil (Adriani, 2018). Nilai negatif yang diperoleh menunjukkan bahwa interaksi antara ligan dan reseptor berlangsung secara spontan (Berk *et al.*, 2007). Hasil *docking* menunjukkan nilai *binding affinity* paling kecil adalah -7,7.

Langkah terakhir dari penelitian ini adalah analisis kemiripan obat, farmakokimia, fisikokimia, dan toksisitas senyawa alami kandidat obat menggunakan web server SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>) (Gambar 6).



Gambar 6. Analisis Potensi Obat Senyawa Luteolin (Sumber : SwissADME, 2023)

Hasil analisis menggunakan SwissADME didapatkan bahwa *lipophilicity* menunjukkan log P_{ow} nya dibawah 5. Hal ini menandakan bahwa senyawa luteolin baik digunakan sebagai kandidat obat. GI absorption terdeteksi memiliki nilai yang tinggi (*high*), hal ini memiliki arti bahwa senyawa ini mudah untuk diserap pada saluran pencernaan. Parameter *BBB permeant* nya tidak terdeteksi, artinya senyawa ini tidak bisa menembus ke syaraf pusat. Parameter *skin permeation* nya mempunyai nilai minus/negatif yang tinggi, hal ini menandakan bahwa senyawa ini sulit menembus melewati kulit.

Senyawa yang dikatakan berpotensi digunakan sebagai obat juga harus memenuhi aturan Lipinski. Terdapat lima aturan yang harus dipenuhi oleh suatu senyawa sehingga dapat dikatakan aman digunakan sebagai obat oral. Kelima aturan tersebut adalah nilai atom reaktif ≤ 500 Da, donor ikatan ≤ 5 , akseptor ikatan hidrogen ≤ 10 , log $P \leq 5$, dan nilai refraktivitas molar antara 40-130 (Lipinski, 2004). Parameter lipinski rule pada SwissADME menyatakan “YES”, hal ini menunjukkan jika senyawa luteolin memenuhi aturan Lipinski dan dapat digunakan sebagai obat oral.

Analisis toksisitas lanjutan dilakukan menggunakan ProTox II (https://tox-new.charite.de/protox_II/). Dari web tersebut didapatkan bahwa perkiraan LD₅₀ senyawa luteolin sebesar 3919 mg/kg. Nilai prediksi tingkat toksisitasnya menunjukkan berada di kelas 5, yang artinya kemungkinan berbahaya ketika tertelan. Hasil dari *toxicity model report* juga menunjukkan bahwa senyawa ini kemungkinan berpotensi sebagai karsinogen dan mutagen.

Mekanisme luteolin dalam menangani kanker payudara diantaranya adalah menekan ekspresi protein yang mengkodekan kanker, mengurangi ukuran sel tumor, viabilitas pertumbuhan dan sekresi VGF, dan meningkatkan ekspresi Bax (Imran *et al.*, 2019). Selanjutnya dilaporkan juga bahwa luteolin dapat menurunkan viabilitas sel tumor, dan juga menurunkan kepadatan pembuluh darah serta memblokir akuisisi sifat seperti sel punca yang diinduksi MPA di sel kanker payudara T47-D dan BT-474 (Selvendiran *et al.*, 2006). Para peneliti juga mengungkapkan bahwa melalui penghambatan ekspresi BCL-2, luteolin

meningkatkan potensi rusaknya membran mitokondria dan pelepasan sitokrom c, serta meningkatkan ekspresi Bax (Cook *et al.*, 2016).

PENUTUP

Dari berbagai hasil yang didapatkan secara *in-silico*, dapat disimpulkan bahwa senyawa luteolin berpotensi dijadikan kandidat obat kanker payudara. Namun data lain juga menyebutkan bahwa senyawa ini berpotensi menyebabkan karsinogen (pada kanker lain selain payudara) dan bersifat mutagen, maka dari itu perlu dilakukan penelitian lebih mendalam terkait hal tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Adriani. 2018. Prediksi Senyawa Bioaktif Dari Tanaman Sanrego (*Lunasia amara* Blanco) Sebagai Inhibitor Enzim Siklooksigenase-2 (COX-2) Melalui Pendekatan Molecular Docking. *Jurnal Ilmiah Pena*, 1(1), 6-11.
- Berk, V.L.C., Landi, E., Walma, T., Vuister, G.W., Dente, L., Hendriks, W.J. 2007. An allosteric intramolecular PDZ-PDZ interaction modulates PTP-BL PDZ2 binding specificity. *Biochemistry*, 46, 13629-13637.
- Chimed, T., Sandagdorj, T., Znaor, A., Laversanne, M., Tseveen, B., Genden, P., & Bray, F. (2017). Cancer incidence and cancer control in Mongolia: Results from the National Cancer Registry 2008–12. *International Journal of Cancer*, 140(2), 302–309.
- Cook, M.T., Mafuvadze, B., Besch-Williford, C., Ellersieck, M.R., & Hyder, S.M. 2016. Luteolin suppresses development of medroxyprogesterone acetate-accelerate 7,12-dimethylbenz(a)anthracene-induced mammary tumors in Sprague-Dawley rats. *Oncol. Rep*, 35 (2), 825–832.
- Fauziah, A., Fatharani, A., Nurawaliah, C. M., Rivianto, F. A., Sakina, I. V., Rahmawati, M., & Nurfadhila, L. 2023. Molecular Docking Of Compound With Potential As Anti-breast Cancer: Literature Review. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 6(2), 416–427.
- Gunasekaran, Ramakrishnan and Balaram, 1996. Disallowed Ramachandran Conformations of Amino Acid Residues in Protein Structures. *Journal of Molecular Biology*, 264, 191 – 198.
- Imran, M., Rauf, A., Abu-Izneid, T., Nadeem, M., Shariati, M.A., Khan, I.A., Imran, A., Orhan, I.E., Rizwan, M., Atif, M., Gondal, T.A., Mubarak, M.S. 2019. Luteolin, a flavonoid, as an anticancer agent: A review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 112(2019), 108612.
- Lipinski, C.A. 2004. Lead and drug-like compounds: The rule-of-five revolution. *Drug Discovery Today: Technologies*, 1(4), 337–341.
- Marthasari, N.K.P., Ariana, P.A., Pratama, A.A., Aryawan, K.Y., & Heri, M. 2022. Sadari: Upaya Mencegah Kanker Payudara Pada Usia Remaja. *Jurnal Abdi Masyarakat*, 2(2), 79-83.
- Saudale, F.Z. 2020. Pemodelan Homologi Komparatif Struktur 3D Protein Dalam Desain dan Pengembangan Obat. *Al-Kimia*, 8(1), 93-103.
- Selvendiran, K., Koga, H., Ueno, T., Yoshida, T., Maeyama, M., Torimura, T., Yano, H., Kojiro, M., & Sata, M. 2006. Luteolin promotes degradation in signal transducer and activator of transcription 3 in human hepatomacells: an implication for the antitumor potential of flavonoids. *Cancer Res*, 66, 4826–4834.
- Shi, Y. (2014). A glimpse of structural biology through X-ray crystallography. *Cell*, 159(5), 995-1014.
- Slabinski, L., Jaroszewski, L., Rodrigues, A. P., Rychlewski, L., Wilson, I. A., Lesley, S. A., & Godzik, A. (2007). The challenge of protein structure determination—lessons from structural genomics. *Protein Science*, 16(11), 2472–2482.

- World Health Organization. 2020. Cancer Indonesia 2020 country profile. Diunduh dari <https://www.who.int/publications/m/item/cancer-idn-2020>, pada 29 Oktober 2023.
- World Health Organization. 2023. Cancer Overview. Diunduh dari https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1, pada 28 Oktober 2023.