

Studi in Silico Potensi Antikanker Senyawa Quercetin, Kaempferol, dan Pelargonidin terhadap Reseptor Histamin 1

Nur Aini, Fendy Hardian Permana*, Siti Zaenab, Diani Fatmawati

Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Malang, Jl. Raya Ngelo Tlogomas No.246, Babatan, Tegalondo, Kec. Lowokwaru, Kota Malang, Jawa Timur 65144

*Penulis korespondensi: fendy@umm.ac.idDOI: <https://doi.org/10.24198/cna.v12.n2.49063>

Abstrak: Kanker menjadi permasalahan kesehatan dunia karena menyebabkan kematian dan diperkirakan akan terus mengalami peningkatan. Menurut *The Global Cancer Observatory (2020)* kasus kanker di Indonesia mencapai 6,89%. Pengobatan kanker dengan memblokir H1R (*Histamine 1 Receptor*) dengan antagonisnya berpotensi menurunkan proliferasi sel kanker. Senyawa flavonoid seperti quercetin, kaempferol dan pelargonidin dapat mereduksi dan berinteraksi dengan protein sehingga dapat dijadikan sebagai antagonis H1R antikanker. Studi *in silico* ini bertujuan mengetahui potensi senyawa quercetin, kaempferol dan pelargonidin terhadap H1R sebagai antikanker. Data senyawa quercetin, kaempferol dan pelargonidin dikumpulkan melalui database Pubchem dan struktur H1R dari database PDB dengan kode 3RZE. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan teknik analisis data berupa kuantitatif deskriptif berdasar nilai *binding affinity* dari proses penambatan molekuler melalui *software Autodock tools 1.5.6*, nilai ADME *Lipinski's Rule of Five* dari webtools swissADME dan toksisitas dari webtools pkCSM. Interaksi ikatan senyawa pelargonidin, kaempferol, quercetin sebagai antagonis reseptor histamin 1 pada penambatan molekuler divisualisasikan menggunakan Discovery Studio 2021. Hasil penelitian ini menunjukkan adanya interaksi elektrostatik pada residu ASP107 yang berperan penting sebagai antihistamin yang berpotensi memblokir H1R melalui mekanisme pensinyalan protein G sehingga aktivitas PKA menurun yang menyebabkan terganggunya invasi sel tumor. Selain itu, berdasarkan prediksi prinsip *Lipinski's Rule of Five* menunjukkan adanya kemiripan obat oral dan prediksi pkCSM tidak bersifat toksisitas.

Kata kunci: antikanker, histamine 1 receptor, kaempferol, pelargonidin, quercetin.

Abstract: Based on data from *The Global Cancer Observatory (2020)* cancer cases in Indonesia reached 6.89%. Cancer treatment by blocking H1R (*Histamine 1 Receptor*) has the potential to reduce cancer cell proliferation. flavonoid compounds such as quercetin, kaempferol and pelargonidin have potential as anticancer agents because they can reduce and interact with proteins. The purpose of this *in silico* study is to determine the potential of quercetin, kaempferol and pelargonidin on H1R as anticancer. quercetin, kaempferol and pelargonidin compounds were collected through the Pubchem database and H1R from the PDB database code 3RZE. This study is experimental with descriptive quantitative data analysis techniques based on binding affinity values from molecular docking through Autodock tools 1.5.6 software, ADME Lipinski's Rule of Five values from swissADME webtools and toxicity from pkCSM webtools. The reaction of pelargonidin, kaempferol, quercetin compounds as H1R antagonists on molecular docking was visualized using Discovery Studio 2021. The results of this study indicate the existence of electrostatic interactions at residue ASP107 which plays an important role as an antihistamine that blocks H1R to reduce PKA activity, causing disruption of tumor cell invasion. In addition, Lipinski's Rule of Five principle prediction shows drug similarity and pkCSM prediction is not toxic.

Keywords: anticancer, histamine 1 receptor, kaempferol, pelargonidin, quercetin

PENDAHULUAN

Kanker penyakit tidak menular namun menyebabkan kematian dan diperkirakan akan terus mengalami peningkatan. Berdasarkan data *Global Burden of Cancer (GLOBOCAN)* tahun 2020 mencapai 19,3 juta jiwa kasus kanker dengan kematian hampir 10 juta jiwa di dunia (*Sung et al.*

2021). Menurut *The Global Cancer Observatory (2020)* kasus kanker di Indonesia mencapai 6,89% dari jumlah penduduk dengan rincian kasus 16,6% kanker payudara, 9,2% kanker servik uteri, 8,8% kanker paru-paru, 8,6% kanker kolorektal, 5,4% kanker hati dan 51,4% kanker lainnya.

Transformasi tumor menjadi kanker (tumor ganas) dapat dipicu oleh histamin. Histamin yang kadarnya tinggi meningkatkan laju proliferasi sel tumor. Histamin sendiri merupakan mediator yang terlibat dalam respons inflamasi dan imun. Adanya tumor memicu keluarnya histamin dari sel basofil dan sel mast ke jaringan tumor. Histamin sebagai faktor pertumbuhan autokrin yang merangsang berbagai peristiwa terkait karsinogenesis, seperti invasi, migrasi dan angiogenesis pada perkembangan kanker (Nguyen & Cho 2021).

Histamin mengaktifkan reseptor histamin protein G yang terdiri dari 4 jenis diantaranya *Histamine 1 Receptor (H1R)*, *Histamine 2 Receptor (H2R)*, *Histamine 3 Receptor (H3R)*, *Histamine 4 Receptor (H4R)* dan di setiap jenisnya memiliki respons biologis yang berbeda (Zhao *et al.* 2020). H1R fungsinya berhubungan kondisi alergi, H2R memediasi sekresi asam lambung, H3R berkaitan dengan sistem saraf dan H4R fungsinya berkaitan dengan imunomodulasi (Nguyen & Cho 2021). Ekspresi dari berbagai subtype HR ditemukan di berbagai jenis kanker. Berdasarkan database PronoScan menunjukkan bahwa hubungan ekspresi H1R dan prognosis ditemukan paling banyak diberbagai jenis kanker (Zhao *et al.* 2020).

Mekanisme H1R dalam jalur pensinyalan bekerja dengan mengkode protein dan berpasangan dengan Gαq/11 menghasilkan aktivitas fosfolipase C dan pelepasan respons *Inositol Trisphosphate (IP3)* serta *Diasilgliserol (DAG)* yang memicu aktivitas *Protein Kinase C (PKC)* (Zhao *et al.* 2020). PKC merangsang jalur pensinyalan proliferasi ERK (Kang 2014). Selain itu aktivitas H1R merangsang adenyl cyclase (AC) untuk menghasilkan cyclic adenosine monophosphate cAMP yang selanjutnya mengaktifkan protein kinase A (PKA). PKA memainkan peran penting dalam pertumbuhan tumor dan metastasis (Zhao *et al.* 2020).

Pensinyalan proliferasi sel dapat dihambat dengan antagonis alami dari tumbuhan sehingga sel mengalami apoptosis. Tumbuhan memiliki metabolit sekunder berupa flavonoid yang mempunyai kemampuan mereduksi dan berinteraksi dengan protein (Batra & Sharma 2013). Apoptosis melibatkan pemutusan ikatan peptida sehingga protein target tidak aktif dan sel akan kehilangan integritas sehingga fosofosit akan menelan sel tersebut dan dihancurkan (Snustad & Simmons 2011).

Senyawa flavonoid yang berpotensi sebagai antikanker diantaranya quercetin, kaempferol, dan pelargonidin (Batra & Sharma 2013). Quercetin mengandung lima gugus hidroksil yang keberadaannya menentukan aktivitas biologinya (Materska 2008). Pelargonidin memiliki empat gugusan hidroksil dan muatan positif antosianin yang dapat mencegah pembentukan radikal bebas (Bueno *et al.* 2012). Kaempferol mengandung gugus hidroksil pada atom C3, C5, C4 dan gugus okso pada

C4 dan ikatan rangkap pada C2-C3 (Imran *et al.* 2019).

Flavonoid banyak ditemukan pada tumbuhan baik di sayur-sayuran, buah-buahan dan bunga. Senyawa quercetin banyak ditemukan di epidermis contohnya di kulit apel dan daun teh hijau (Mlcek *et al.* 2016). Pelargonidin banyak ditemukan pada tumbuhan berpigmen contohnya stroberi (Bueno *et al.* 2012). Kaempferol banyak ditemukan pada teh, apel, stroberi, kacang-kacangan, dan buah jeruk (Lee & Kim 2016).

Terfenadine menargetkan H1R sebagai antihistamin dan secara *in vivo* maupun *in vitro* memberikan efek terapeutik dalam penghambatan kanker hati (Zhao *et al.* 2020). Namun terfenadine menimbulkan efek samping pada konsentrasi farmakologisnya (Hadzijusufovic *et al.* 2010). Selain itu, terfenadine menunjukkan kardiotoxicitas karena interaksinya dengan saluran kalium jantung (Shimamura *et al.* 2011). Alternatif pencegahan dampak negatif dari terfenadine dapat digantikan dengan senyawa flavonoid. Penggunaan senyawa flavonoid banyak diteliti namun belum ada yang digunakan sebagai antagonis H1R antikanker sehingga penelitian ini dapat menjadi strategi dalam mengurangi peningkatan kasus kanker di dunia. Hasil data dari penelitian ini dapat dijadikan dasar dalam penelitian *in vitro* dan *in vivo* dalam pengembangan obat kanker. Studi *in silico* ini bertujuan mengetahui potensi senyawa quercetin, kaempferol dan pelargonidin terhadap H1R sebagai antikanker.

BAHAN DAN METODE

Persiapan Ligan dan Reseptor

Struktur 3D senyawa pelargonidin (CID: 440832), quercetin (CID: 5280343), kaempferol (CID:5280863) diunduh dari web Pubchem dalam format sdv dan kemudian diconvert dalam format pdb melalui *Discovery Studio 2021*. Struktur 3D (H1R) diunduh dari Protein Data Bank (PDB) dengan ID 3RZE. Makromolekul yang diunduh dari PDB berada dalam kondisi struktur molekulnya terikat dengan inhibitor lain dan air sehingga harus dipisahkan menggunakan *Discovery Studio 2021* (Hariono 2015).

Prediksi Farmakokinetik dan Toksisitas

Prediksi farmakokinetik dilakukan menggunakan SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>) meliputi *Boiled-egg*, radar bioavailabilitas serta prinsip *Lipinski's Rule of Five* yang memuat analisis ADME (Absorpsi, Distribusi, Metabolisme, Ekskresi) untuk efektifitas penggunaan obat secara oral. (Ranjith & Ravikumar 2019). Prediksi toksisitas menggunakan *pkCSM webtools* (<http://biosig.unimelb.edu.au/pkcsml/>) (Bojarska *et al.* 2020). *Hardware* yang digunakan laptop Lenovo G400 processor Intel®Celeron® CPU 1005M @ 1.90 GHz; RAM (*Random Access Memory*): 2,00GB,

SSD 120GB dan *software* operasi sistem windows 10 64-bit.

Validasi Metode Penambatan Molekul

Validasi metode penambatan molekul dilakukan dengan cara *redocking*. Proses tersebut menghasilkan titik koordinat reseptor dengan afinitas terkecil hingga besar (Dwirosalia *et al.* 2021). Metode docking dikatakan baik apabila memenuhi parameter *Root Mean Square Deviation* (RMSD) $\leq 2\text{\AA}$ (Mardianingrum *et al.* 2021).

Simulasi Penambatan Molekul

Proses penambatan molekul menggunakan *software Autodock tools 1.5.6*. Ligan ditambahkan muatan *gasteiger* sedangkan reseptor ditambahkan muatan *kollmam* dan disimpan dalam bentuk *pdqt*. Kemudian penyisipan ligan.*bdpqt* dan reseptor.*bdpqt* untuk menentukan titik koordinat autogrid sesuaikan dengan hasil validasi metode. Selanjutnya pengaturan parameter docking dengan menggunakan perhitungan genetic algoritma (GA) dengan 100 pengulangan menggunakan parameter Lamarkian genetic (Morris *et al.* 2010). Autodock 4.2 digunakan pada saat proses penambatan molekul berlangsung (Mardianingrum *et al.* 2021). Hasil penambatan menghasilkan nilai *binding affinity* dan hasil penambatan ikatan kompleks divisualisasikan melalui *software Discovery Studio Visualizer 2021*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Bioavailabilitas SwissADME

Bioavailabilitas merupakan parameter yang menentukan jumlah dan kecepatan obat untuk diserap dalam tubuh secara oral (Labibah & Rusdiana 2022). Laju dan kesempurnaan penyerapan obat menentukan jumlah efektivitas mencapai sisi kerja (Nogrady 1992). Bioavailabilitas obat secara oral pada penelitian ini menggunakan *swissADME* ditampilkan dalam analisis parameter prinsip *lipinski's rule of five*, *boiled-egg*, radar bioavailabilitas sebagai berikut:

Berdasarkan Prinsip *Lipinski's Rule of Five*

Prinsip *Lipinski's Rule of Five* adalah metode untuk menentukan fisikokimia untuk kemungkinan tinggi menjadi obat oral (menunjukkan kemiripan

obat) (Ranjith & Ravikumar 2019). Berdasarkan Tabel 1, senyawa quercetin, kaempferol dan pelargonidin menunjukkan adanya kemiripan obat karena tidak adanya pelanggaran pada prinsip *Lipinski's Rule of Five* yaitu berat molekul < 500 g/mol, TPSA 40-130 \AA , cLogP < 5 , HBA (H-Bond Acceptor) < 10 dan HBD (H-Bond Donor) < 5 . Obat agar dapat diabsorpsi tubuh maka harus melintasi membran sel agar mencapai reseptor. Membran sangat selektif permeabel dikarenakan memiliki dua sifat (amfipatik) yaitu hidrofilik (polar) di bagian kepala dan hidrofobik (non polar) dibagian ekor (Stryer 2000). Menurut Santoso & Santri (2016) membran dapat tereksitasi apabila terdapat rangsangan kimia.

Berdasarkan data Tabel 1, senyawa quercetin memiliki massa dan TPSA tertinggi dibandingkan senyawa lain. Massa obat dan TPSA semakin besar maka akan sulit untuk menembus membran sehingga membutuhkan waktu yang lama untuk absorpsi dan distribusi obat. TPSA $< 140\text{\AA}^2$ mencirikan permeabilitas yang signifikan dalam membran plasma seluler (Bojarska *et al.* 2020). Laju kecepatan difusi obat dipengaruhi ukuran luas penampang molekul dan densitas membran (Seelig 2020) sedangkan kelarutan quercetin memiliki nilai larut paling baik dibandingkan senyawa lain yaitu -3,16. (Tabel 3). Menurut Daina (2017) nilai ClogS antara < -4 dan < -2 mengidentifikasi tingkatan kelarutan tergolong larut dan nilai < -2 tergolong sangat larut.

Kelarutan memiliki peran penting terhadap interaksi dengan organel sel dan derajat kelarutan berbeda pada tiap kompartemen (Nogrady 1992). Senyawa organik non ionik mudah membentuk ikatan hidrogen dengan air dan mengubah sifat air yang menyebabkan penurunan titik beku, peningkatan titik didih, dan peningkatan tekanan osmotik larutan. Quercetin memiliki gugus hidroksil lebih banyak dibandingkan pelargonidin dan kaempferol. Selain itu, quercetin memiliki gugus fungsi karbonil (C=O) dan gugus (O). Menurut Nogrady (1992) air mudah membentuk ikatan dengan ion atau senyawa non ionik polar melalui gugusan -OH, -NH, -SH dan -C=O atau dengan pasangan elektron tidak terikat pada atom O dan N sehingga nilai kelarutan quercetin lebih tinggi dari

Tabel 1. Hasil skrining SwissADME

Nama Senyawa	Berat Molekul (g/mol)	cLogP	cLogS	TPSA (\AA^2)	NORTB	HBA	HBD	%ABS (%)
	< 500	< 5		40-130	9	< 10	< 5	
Quercetin	302,24	1,23	Larut	131,36	1	7	5	63,68
Pelargonidin	271,24	0,93	Larut	94,06	1	5	4	76,55
Kaempferol	286,24	1,58	Larut	111,13	1	6	4	70,66

Keterangan : Lipofilisitas (clogP), Kelarutan dalam air (cLogS), topologi permukaan kutub area (TPSA), Jumlah ikatan yang diputar NORTB, dan penyerapan oral total (%ABS)

senyawa lainnya walaupun nilai massa dan TPSA lebih besar.

Kaempferol memiliki nilai ClogP (lipofilisitas) tertinggi dibandingkan senyawa lainnya (Tabel 2). Nilai lipofilisitas semakin tinggi maka senyawa semakin bersifat hidrofobik namun jika nilai >5 menyebabkan suatu senyawa lebih lama tinggal di lipid bilayer (Mardianingrum *et al.* 2021). Kaempferol memiliki gugus OH lebih sedikit dari pada quercetin sehingga sifat hidrofilik lebih rendah dan lebih mudah melepas air. Lipid tidak dapat larut dengan air tetapi dapat larut dalam pelarut organik. Kaempferol memiliki gugus C=O dan atom O dalam hal ini mempengaruhi ikatan hidrofobik sedangkan pelargonidin ini hanya mempunyai gugus O⁺ dan gugus OH sehingga sifat kaempferol memiliki lipofilisitas yang lebih tinggi. Ikatan hidrogen yang kuat antara gugus C=O terbentuk apabila tidak ada air. Molekul kecil dapat menembus membran dwilipid dengan cara melepas selubung air, selanjutnya larut dalam hidrokarbon di tengah membran akhirnya molekul berdifusi menembus ke bagian ke sisi lain sisi membran dan terjadi penyelubungan kembali oleh molekul-molekul air (Stryer 2000).

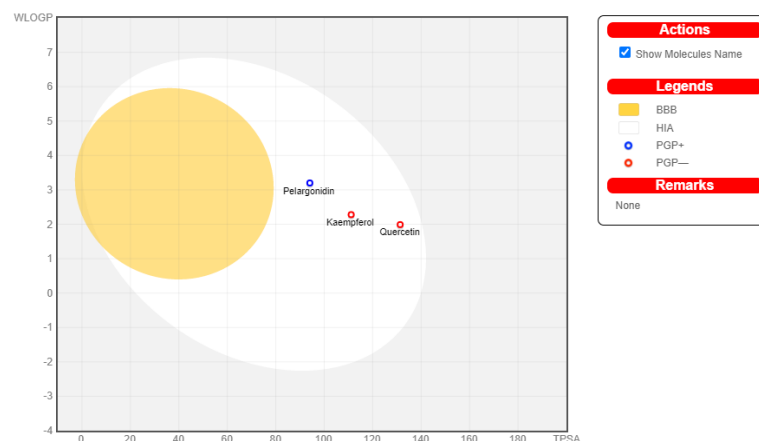
Pelargonidin memiliki nilai HBA dan HBD paling rendah dibandingkan senyawa quercetin dan kaempferol. HBA dan HBD meningkatkan afinitas obat ke membran melalui ikatan elektrostatis (Seelig 2020). Interaksi elektrostatis menarik obat dalam lingkungan lipid dan melepaskan segera pada fase air. Semakin tinggi nilai HBA dan HBD maka energi yang dibutuhkan dalam penyerapan membran semakin tinggi (Mardianingrum *et al.* 2021). Dari data di atas, dapat disimpulkan quercetin memiliki kelarutan air paling baik, kaempferol memiliki lipofilisitas yang paling baik, dan pelargonidin memiliki ABS% paling baik karena nilai HBA dan HBD yang lebih sedikit dibandingkan senyawa lainnya sehingga energi yang dibutuhkan lebih sedikit.

Hasil Prediksi Boiled-egg

Prediksi Boiled-egg (Brain or Intestinal Estimated) memprediksi Human Intestinal Absorption (HIA) dan Blood-Brain Barrier (BBB) berdasarkan nilai WLOGP dan TPSA. Daerah putih adalah untuk kemungkinan besar penyerapan pasif oleh saluran pencernaan dan daerah kuning kemungkinan penetrasi oleh otak. Prediksi boiled-egg senyawa quercetin, pelargonidin, kaempferol berada di daerah putih mengidentifikasi baik diserap pada sistem pencernaan dan tidak dapat diserap sawar darah otak.

PGP diklasifikasikan menjadi dua yaitu subtract dan non subtract yang digunakan untuk memprediksi penghabisan. Prediksi boiled-egg pada swissADME PGP diidentifikasi menjadi PGP+ sebagai substrat penghabisan aktif dan PGP- mengidentifikasi penghabisan tidak aktif sebagai non substrat. Penghabisan PGP berimplikasi pada penyerapan, distribusi, metabolisme ekskresi, dan toksisitas obat yang secara klinis dapat mengubah kemanjuran atau menyebabkan berbagai efek samping yang merugikan akibat interaksi obat-obatan (Chen *et al.* 2018). Pelargonidin memiliki titik berwarna biru (PGP+) yang mengidentifikasi substrat sebagai penghabisan aktif sedangkan quercetin dan kaempferol bertitik merah (PGP-) yang mengidentifikasi non substrat. P-gp (Permeabilitas glikoprotein) pengikatan obat yang menentukan substrat atau non substrat dalam transport ATP menilai penghabisan aktif atau dipompa keluar melalui membran biologis (Ranjith & Ravikumar 2019). PGP non substrat berpotensi menjadi agen antikanker (Bojarska *et al.* 2020). PGP yang diekspresikan secara berlebihan di beberapa sel tumor menyebabkan kanker yang resistansi terhadap banyak obat (Daina *et al.* 2017).

PGP-non substrat tidak terkena penghabisan aktif sehingga dapat mengurangi tingkatan ekspresi pada PGP. PGP berperan dalam pengangkutan zat kimia dan xenobiotic untuk melintasi membrane sel dengan



Gambar 1. Prediksi boiled-egg

menggunakan ATP sebagai penggerak (Chen *et al.* 2018). PGP diekspresikan dalam sel epitel usus, sel endotel kapiler otak, epitel tubulus ginjal dan hepatosit yang membatasi permeabilitas membran obat (Ohashi *et al.* 2019).

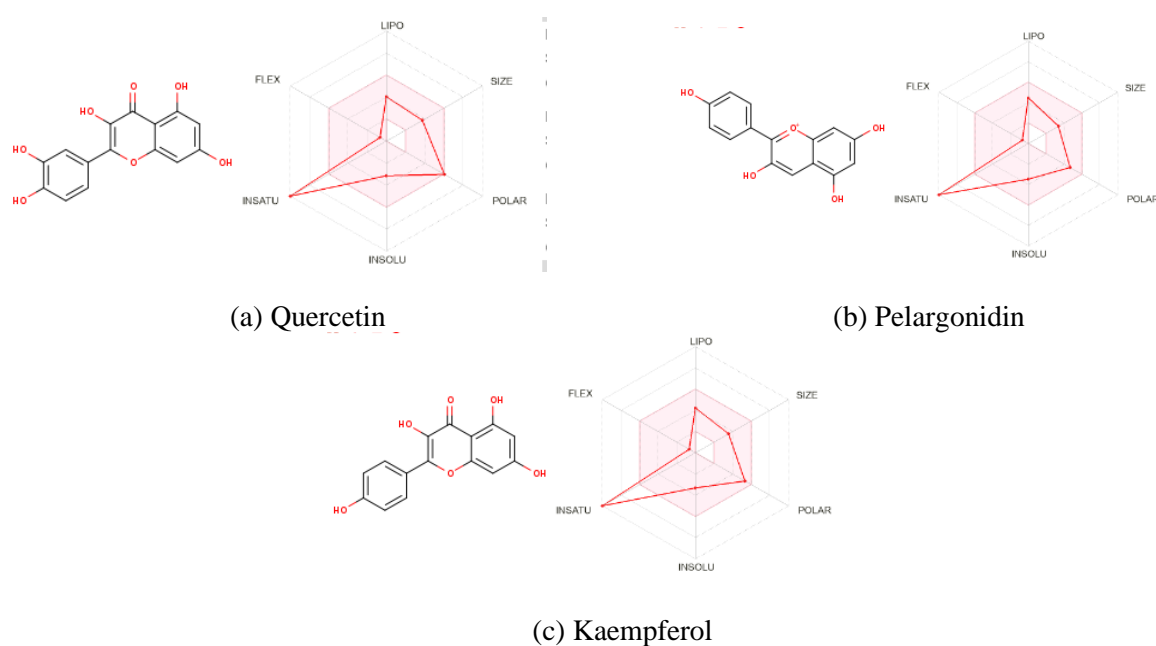
Sel yang dipenuhi obat sitotoksik meminimalkan beban dengan mengekspresikan PGP berlebih. Obat berinteraksi dengan PGP pada fase air di sitoplasma kemudian dipompa melewati membran lipid dan dilepaskan di ekstraseluler. Ekstruksi satu molekul obat oleh PGP membutuhkan hidrolisis setidaknya satu molekul ATP secara signifikan meningkatkan kebutuhan ATP. Tingkat fosforilasi oksidatif yang tinggi dapat menghasilkan spesies oksigen reaktif (ROS) sebagai produk sampingan yang dapat memicu kanker (Seelig 2020).

Radar Bioavailabilitas

Grafik plot segi enam area merah mudah mewakili kisaran optimal sifat kemiripan obat yang mendefinisikan bioavailabilitas yang sepenuhnya harus jatuh di daerah merah mudah (Daina *et al.* 2017). Masing-masing sumbu segi enam daerah merah mudah mewakili kisaran optimal sifat obat

meliputi lipofilisitas XLOG3 antara 0,7 dan 5,0, berat molekul antara 150-500 g/mol, polaritas TPSA antara 20-130, saturasi fraksi karbon dalam Csp₃ hibridasi tidak kurang dari 0,25 dan fleksibilitas tidak melebihi dari 9 ikatan yang diputar (Bojarska *et al.* 2020).

Berdasarkan grafik (Gambar 2) dan data radar Bioavailabilitas (Tabel 2) senyawa quercetin, pelargonidin dan kaempferol tidak optimal pada sumbu insaturasi. Parameter insaturasi dinilai dari fraksi karbon terhibridisasi sp³ (Csp³) yang tidak boleh kurang dari 0,25, sedangkan ketiga senyawa memiliki nilai insaturasi 0 dari hal tersebut menunjukkan bahwa tiga senyawa tidak tersedia secara oral karena terlalu saturasi. Bioavailabilitas obat secara oral bergantung pada dua parameter utama, kelarutan dan permeabilitas (Labibah & Rusdiana 2022). Namun, berdasarkan prinsip Lipinski kelarutan dari ketiga senyawa menunjukkan kelarutan yang baik dan berdasarkan Boiled-egg ketiga senyawa memiliki daya serap yang baik pada sistem pencernaan sehingga quercetin, pelargonidin dan kaempferol menggambarkan bioavailabilitas yang baik dan memenuhi kriteria sebagai obat oral.



Gambar 2. Grafik radar bioavailabilitas

Tabel 2. Data radar bioavailabilitas

Senyawa	LIPO	FLEX	INSATU	INSOLU	POLAR (Å ²)	SIZE (g/mol)
Quercetin	1,54	1	0	-3,16	131,36	302,24
Pelargonidin	2,29	1	0	-3,49	94,06	271,24
Kaempferol	1,9	1	0	-3,31	111,13	286,24

Keterangan: Lipophilisitas (LIPO), fleksibilitas (Flex), Insaturasi (INSATU), Kelarutan (INSOLU), dan Polaritas (Polar)

Hasil Uji Toksisitas

Berdasarkan hasil prediksi pkCSM AMES toksisitas pada quercetin, kaempferol, pelargonidin dinyatakan tidak menyebabkan mutagenesis sehingga tidak berpotensi menjadi karsinogen (Tabel 3). AMES toksisitas merupakan metode yang digunakan untuk menilai mutagenik dengan menggunakan bakteri. Hasil yang positif menunjukkan senyawa obat bersifat mutagenik yang dapat bertindak sebagai karsinogen (Fakhruri & Rahmayanti 2021).

Prediksi (Maksimum Toleransi Dosis) MTD manusia pada quercetin, pelargonidin, kaempferol tertinggi terdapat pada kaempferol 0,531 log mg/kg/day. MTD ditetapkan dalam pengembangan obat sebelum uji klinis pada manusia. Dosis yang lebih tinggi mungkin diperlukan pada penyakit akut atau berat tetapi ketika pasien stabil dosis yang diperlukan lebih rendah cukup efektif dan meminimalkan efek samping. Dosis yang lebih tinggi dari MTD kurang dapat ditoleransi dengan baik dan membuat detak jantung yang lebih lambat dapat meningkatkan tekanan darah sistolik yang tidak menimbulkan manfaat bagi tubuh (Stampfer *et al.* 2019).

Prediksi penghambatan hERG I hERG II dinyatakan tidak menghambat atau tidak bersifat toksik. Toksisitas hERG memprediksi kardiotoksisitas yang melibatkan pengikatan senyawa ke saluran kalium jantung yang dikode gen hERG (Lee *et al.* 2019). Kanal hERG bekerja mengatur detak jantung apabila kanal terinhibisi oleh senyawa obat maka dapat menyebabkan kehilangan kesadaran atau menyebabkan risiko mati mendadak (Kesuma *et al.* 2018).

Prediksi uji toksisitas LD50 menunjukkan kaempferol memiliki nilai dosis yang paling tinggi yaitu 2.449 mol/kg di antara senyawa lainnya. Uji toksisitas LD50 (Letal Median 50) menentukan dosis suatu zat yang diharapkan secara statistik dapat membunuh 50% hewan uji coba (Lu 1995). Apabila hasil dosis LD50 semakin tinggi maka nilai toksisitas semakin rendah.

Prediksi hepatotoksitas dari quercetin, kaempferol, dan pelargonidin tidak menimbulkan toksisitas atau kerusakan pada organ hati sehingga tidak mengganggu metabolisme. Hepatotoksitas kerusakan pada organ hati menyebabkan perubahan mekanisme dan morfologi yang mempengaruhi biokimia. Melalui sistem pencernaan toksin masuk ke

dalam tubuh dan diserap dibawa oleh vena portal hati menuju organ hati. Enzim pada hati metabolisme xenobiotik membuat toksik menjadi kurang toksik dan mudah larut dalam air sehingga mudah diekskresikan (Lu 1995).

Hasil Docking

Hasil validasi metode docking digunakan untuk menentukan titik koordinat dalam memposisikan ligan dengan reseptor dalam proses docking. Validasi docking dapat dilakukan dengan cara redocking atau melihat penelitian sebelumnya. Hasil redocking antara H1R (3RZE) dengan ligan asli doxepin (5EH) terdapat di titik koordinat 16,801, 35,487, 22,240 dengan RMSD < 2 Å yaitu 0,60 Å (Tabel 4). Posisi tersebut digunakan sebagai acuan docking kandidat obat senyawa flavonoid dalam proses docking dalam penelitian ini.

Faktor afinitas ikatan antara ligan dan reseptor dipengaruhi interaksi Elektrostatik, van der Waals dan Interaksi hidrofobik. Ikatan hidrogen memiliki peran penting terhadap afinitas antara senyawa dan protein target untuk membentuk interaksi elektrostatik (donor dan akseptor hidrogen). Sedangkan interaksi hidrofobik dan interaksi van der Waals memperkuat ikatan ligan dan reseptor (Dwirosalia *et al.* 2021).

Berdasarkan hasil penambatan ligan dengan reseptor histamine 1 nilai binding afinitas kaempferol menunjukkan ikatan paling kuat dibandingkan quercetin dan pelargonidin yaitu -9,47Å (Tabel 5). Nilai *binding affinity* semakin negatif menunjukkan ikatan semakin kuat antara ligan dan protein target (Listyorini *et al.* 2020). Ikatan hidrofobik pada quercetin lebih sedikit dibandingkan kaempferol. Posisi ikatan hidrofobik pada sisi non polar menghasilkan entropi yang penting untuk interaksi ligan dan reseptor (Dwirosalia *et al.* 2021).

Ikatan hidrogen quercetin terdapat lima dan satu ikatan karbon hidrogen (C-H) (Gambar 3a). Jarak ikatan hidrogen yang terbentuk antara H1R dan quercetin kurang dari 3Å (Tabel 6) (Gambar 4). Menurut Yan (2017), ikatan hidrogen dengan jarak kurang dari 3,0 Å menunjukkan interaksi ikatan yang kuat. Ikatan karbon hidrogen termasuk ke dalam ikatan non polar dan jarak yang terbentuk di asam amino Ser11 yaitu 3,69 Å tergolong tidak kuat (Gambar 4a). Menurut Arba (2020) residu yang jarak interaksinya kurang dari 3,0 Å menunjukkan ikatan

Tabel 3. Data hasil prediksi toksisitas

Senyawa	AMES	MTD (log mg/kg/day)	hERG I	hERG II	LD 50 (mol/kg)	Hepatotoxicity
Quercetin	Tidak	0,499	Tidak	Tidak	2.471	Tidak
Kaempferol	Tidak	0,531	Tidak	Tidak	2.449	Tidak
Pelargonidin	Tidak	0,501	Tidak	Tidak	2.431	Tidak

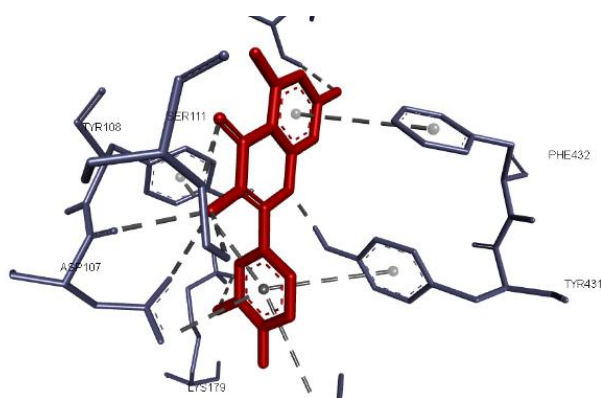
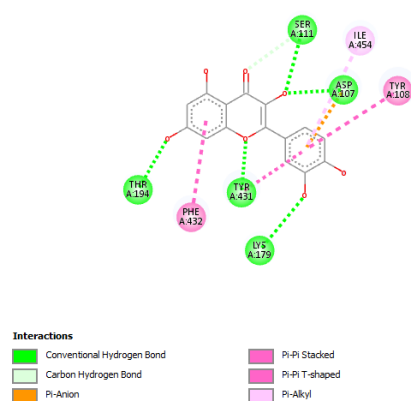
Keterangan: Mutagenesis (AMES), Human Maximum Tolerated Dose (HMTD), dan Median Lethal Dose (LD₅₀)

Tabel 4. Hasil validasi metode *docking*

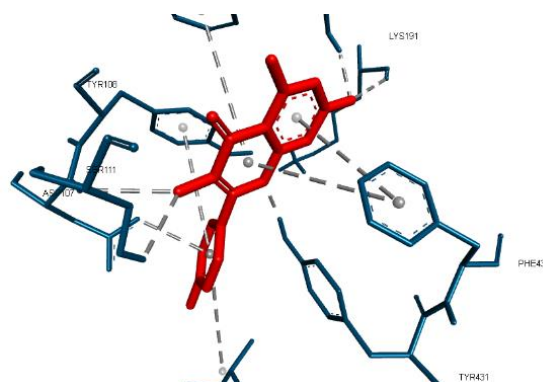
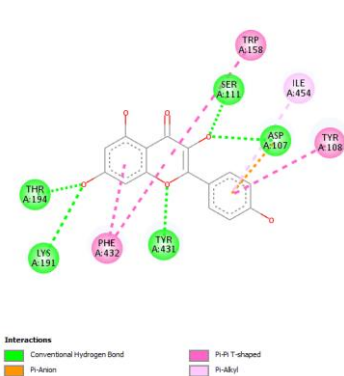
Kode PDB	Grid Box			RMSD (Å) ≤ 2	Binding affinity
	X	Y	Z		
3RZE (5EH)	16,801	35,487	22,240	0,60	-10.58

Tabel 5. Hasil docking ligan terhadap reseptor histamin 1

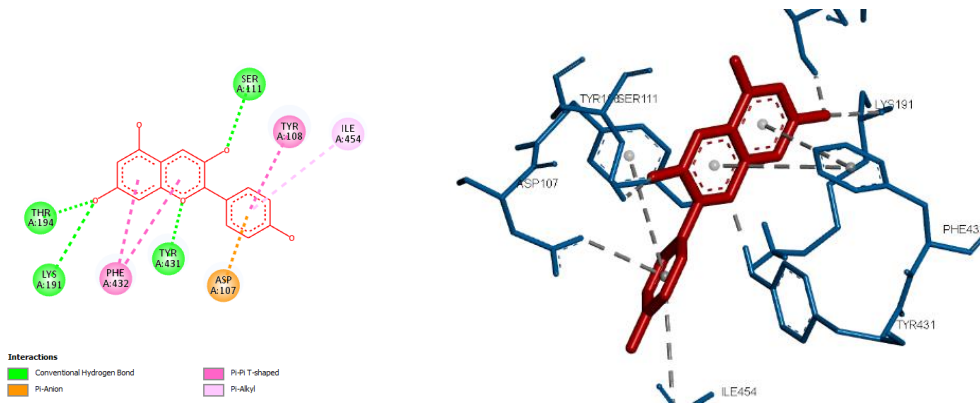
Senyawa	Binding affinity (kcal/mol)	Interaksi Kimia Asam Amino		
		Ikatan Hidrogen	Ikatan Hidrofobik	Ikatan Elektrostatik
Quercetin	-8,95	SER111, LYS179, TYR431, THR194, ASP107,	TYR431, TYR108, PHE432, ILE454	ASP107
Kaempferol	-9,47	SER111, THR194, TRY431, LYS191, ASP107	TYR108, TRP158, PHE432, PHE432, ILE454	ASP107
Pelargonidin	-9,41	SER111, THR194, TRY431, LYS191	TRY108, PHE432, PHE432, ILE454	ASP107



(a) Quercetin



(b) Kaempferol

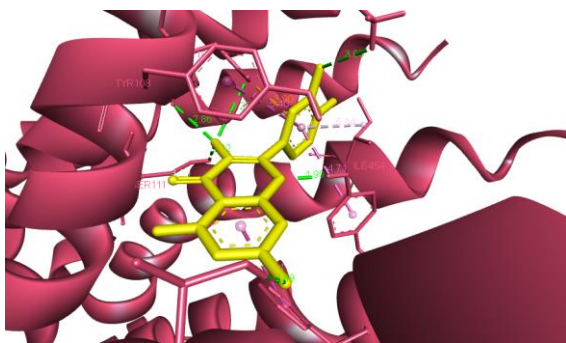


(c) Pelargonidin

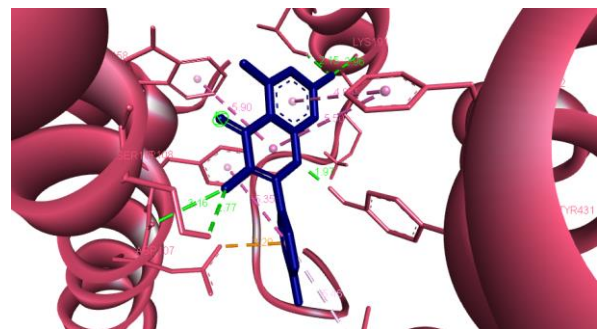
Gambar 3. Visualisasi 2D dan 3D penambatan ligan

Tabel 6. Jarak ikatan hidrogen

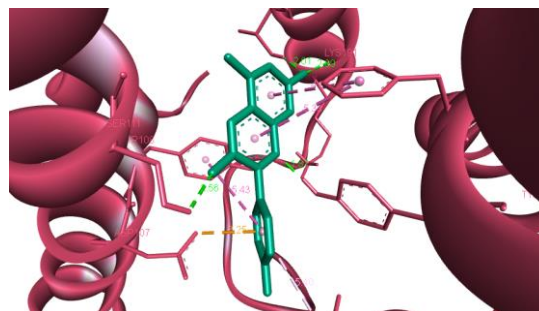
Asam Amino	Jarak Ikatan Hidrogen (Å)		
	Quercetin	Kaempferol	Pelargonidin
Ser111	2,82	2,77	2,56
Ser111	-	-	-
Thr194	2,48	2,15	2,01
Tyr431	1,99	1,97	1,87
Lys191	-	2,96	2,99
Lys179	3,00	-	-
Asp 107	2,86	3,6	-



Quercetin



Kaempferol



Pelargonidin

Gambar 4. Visualisasi 3D jarak ikatan kimia antara ligan dengan reseptor H1R
 (Keterangan : Garis hijau: ikatan hidrogen dan garis oren: ikatan elektrostastik)

yang stabil atau kuat. Kaempferol memiliki 5 ikatan hidrogen sama dengan quercetin namun jarak dimiliki kaempferol lebih rapat dibandingkan quercetin (Tabel 6) (Gambar 4) sedangkan pelargonidin memiliki 4 ikatan hidrogen yang semua jaraknya $<3,0 \text{ \AA}$ dibandingkan quercetin (Tabel 6) (Gambar 4) sehingga kaempferol dan pelargonidin memiliki binding affinity yang kuat dibandingkan quercetin.

Ikatan elektrostatik yang terbentuk dari ikatan hidrogen merupakan sebuah gugusan pada suatu substrat yang dapat menarik gugusan bermuatan berlawanan pada suatu enzim (Stryer 2000). Ikatan elektrostatik dari kaempferol, quercetin, pelargonidin pada H1R mengikat residu Asp107 memiliki peran penting sebagai antihistamin (Gambar 4). Menurut Ohta (1994) Asp107 pada reseptor histamin 1 manusia sangat penting untuk pengikatan agonis dan antagonis. Residu Asp107 mengenali histamine dan mengaktifkan reseptor histamine 1. Histamine merupakan agonis reseptor histamine 1 sehingga agar tidak terjadinya ikatan antara H1R dengan histamine memerlukan antagonis.

Pemblokiran H1R dengan antagonis H1R menekan proliferasi pada sel kanker dengan memicu pensinyalan ERK untuk memulai kematian sel apoptosis (Nguyen & Cho 2021). Menurut Zhao (2020), Antagonis H1R memblokir H1R pada sel tumor SNU-368 mengganggu invasi sel tumor pada *karsinoma hepatoseluler*. Penyuntikan sel SNU-368 dengan memblokir H1R pada tikus menunjukkan penurunan terjadinya metastasis. H1R mengaktifkan persinyalan PKA dan PKC. Inhibitor PKA menurunkan aktivitas PKA yang berdampak pada penurunan pertumbuhan dan metastasis sel kanker yang diinduksikan oleh ekspresi berlebih H1R. Antagonis H1R menjadi strategi terbaru dalam pengobatan terapi kanker karena dapat menurunkan aktivitas PKA melalui pemblokiran H1R.

Kanker merupakan tumor yang mengalami metastasis yang menginvasi pembuluh darah dan menyebarkannya ke organ lain sehingga disebut maglina (ganas) (Surya 2005). Senyawa quercetin, pelargonidin, kaempferol memiliki potensi menjadi antagonis H1R yang mampu menghalangi invasi tumor dan menurunnya terjadinya metastasis. Secara studi *in vitro* dan *in vivo* efek dari antagonis H1R pada perkembangan tumor di berbagai jenis kanker menurunkan proliferasi dan menginduksika apoptosis sel maka antagonis H1R mendukung pengobatan terapi untuk meningkatkan kemanjuran terapeutiknya (Nguyen & Cho 2021).

KESIMPULAN

Berdasarkan bioavailabilitas quercetin, pelargonidin kaempferol pada prinsip *Lipinski's Rule of Five* menunjukkan adanya kemungkinan menjadi obat oral sedangkan pada prediksi boiled egg kaempferol dan quercetin diidentifikasi sebagai non substrat sehingga dapat menurunkan ekspresi ppg dan

tidak menyebabkan resistensi multi obat namun pelargonidin masih diidentifikasi sebagai substrat. Pada hasil docking senyawa pelargonidin, kaempferol, quercetin terhadap reseptor histamin 1 sebagai agen anti kanker menunjukkan kaempferol memiliki *binding Affinity* tertinggi $-9,47 \text{ \AA}$. selain itu, ketiga senyawa memiliki interaksi elektrostatik pada residu ASP 107 yang berperan penting sebagai antihistamin yang berpotensi memblokir H1R sehingga aktivitas PKA menurun yang menyebabkan terganggunya invasi sel tumor. Maka kaempferol kandidat obat yang memiliki peluang besar sebagai obat kanker dan dilanjutkan dengan quercetin meskipun pelargonidin memiliki affinity yang lebih tinggi dari pada quercetin namun pelargonidin diidentifikasi sebagai substrat yang dapat menimbulkan resistensi obat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada bapak ibu dosen program studi pendidikan biologi Universitas Muhammadiyah Malang yang telah mengenalkan mengenai penelitian studi *in silico*

DAFTAR PUSTAKA

- Arba, M., Nur-Hidayat, A., Usman, I., Yanuar, A., Wahyudi, S.T., Fleischer, G., Brunt, D.J. & Wu, C. (2020). Virtual screening of the Indonesian medicinal plant and zinc databases for potential inhibitors of the rna-dependent rna polymerase (Rdrp) of 2019 novel coronavirus. *Indonesian Journal of Chemistry*. **20(6)**: 1430–
- Batra, P. & Sharma, A.K. (2013). Anti-cancer potential of flavonoids: recent trends and future perspectives. *3 Biotech*. **3**: 439-459.
- Bojarska, J., Remko, M., Breza, M., Madura, I.D., Kaczmarek, K., Zabrocki, J. & Wolf, W. M. (2020). A supramolecular approach to structure-based design with a focus on synthons hierarchy in ornithine-derived ligands: Review, synthesis, experimental and in silico studies. *Molecules*. **25(5)**: 1135.
- Bueno, J. M., Sáez-Plaza, P., Ramos-Escudero, F., Jiménez, A. M., Fett, R. & Asuero, A. G. (2012). Analysis and antioxidant capacity of anthocyanin pigments. Part II: Chemical structure, color, and intake of anthocyanins. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. **42(2)**: 126-151.
- Chen, C., Lee, M.H., Weng, C.F. & Leong, M.K. (2018). Theoretical prediction of the complex P-glycoprotein substrate efflux based on the novel hierarchical support vector regression scheme. *Molecules*. **23(7)**: 1820.
- Daina, A., Michielin, O. & Zoete, V. (2017). SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Scientific Reports*. **7(1)**: 42717.

- Dwirosalia, D., Yustisia, I., Arsyad, A., Natsir, R., Cangara, M.H. & Patellongi, I. (2021). Studi in silico potensi anti kanker senyawa turunan kumarin terhadap protein BCL-2. *Majalah Farmasi Dan Farmakologi*. **25(2)**: 84–87.
- Fakhruri, M. & Rahmayanti, Y. (2021). Potensi fitokimia citrus aurantium (hesperetin, naringenin) dalam menghambat xantin oksidase pada hiperurisemia secara in silico. *Jurnal Health Sains*. **2(1)**: 79-89.
- Hadzijusufovic, E., Peter, B., Gleixner, K.V., Schuch, K., Pickl, W.F., Thaiwong, T., Yuzbasiyan-Gurkan, V., Mirkina, I., Willmann, M. & Valent, P. (2010). H1-receptor antagonists terfenadine and loratadine inhibit spontaneous growth of neoplastic mast cells. *Experimental Hematology*. **38(10)**: 896–907.
- Hariono, M. (2015). In silico study of N1-alkyltheobromine as histamine-H1 receptor antagonist. *International Journal of Life Sciences Biotechnology and Pharma Research*. **4(2)**: 108–122.
- Imran, M., Salehi, B., Sharifi-Rad, J., Gondal, T.A., Saeed, F., Imran, A., Shahbaz, M., Fokou, P.V. T., Arshad, M.U., Khan, H., Guerreiro, S.G., Martins, N. & Estevinho, L.M. (2019). Kaempferol: A key emphasis to its anticancer potential. *Molecules*. **24(12)**: 1–16.
- Kang, J. (2014). Protein kinase C (PKC) isozymes and cancer. *New Journal of Science*. **2014**: 1–36.
- Kesuma, D., Purwanto, B. T. & Hardjono, S. (2018). Uji in silico aktivitas sitotoksik dan toksisitas senyawa Turunan N-(Benzoil)-N'-feniltiourea sebagai calon obat antikanker. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*. **3(1)**: 1-11.
- Labibah, L. & Rusdiana, T. (2022). Hubungan Jenis Kelamin terhadap Eksipien Farmasi dalam Mempengaruhi Bioavailabilitas Obat. *Majalah Farmasetika*. **7(3)**: 176-188.
- Lee, J. & Kim, J.H. (2016). Kaempferol inhibits pancreatic cancer cell growth and migration through the blockade of EGFR-related pathway in vitro. *PLoS ONE*. **11(5)**: 1–14.
- Listyorini, D., Wirmaris, N., Prananingrum, P., Kartikasari, N., Rahayu, D.A., Khasna, E.N., Karisma, V.D., Ardana, I.K.K.G., Wardana, Z.O. & Zakiyah A, S. (2020). *Biologi Monekuler & Bioinformatika*. 1st ed. UMM PRESS. Malang.
- Lu, F.C. (1995). *Toksikologi Dasar: Organ Sasaran dan Penilaian Resiko*. 2nd eds. UI-Press.
- Mardianingrum, R., Bachtiar, K.R., Susanti, S., Nuraisah, A.N.A. & Ruswanto, R. (2021). Studi in silico senyawa 1, 4-Naphthalenedione-2-Ethyl-3-Hydroxy sebagai antiinflamasi dan antikanker payudara. *ALCHEMY Jurnal Penelitian Kimia*. **17(1)**: 83-95.
- Materska, M. (2008). Quercetin and its derivatives: chemical structure and bioactivity-a review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*. **58(4)**: 407-413.
- Mlcek, J., Jurikova, T., Skrovankova, S. & Sochor, J. (2016). Quercetin and its anti-allergic immune response. *Molecules*. **21(5)**: 623.
- Morris, G.M.S., Goodsell, D., Pique, M.E., Lindstrom, W., Lindy, Huey, R., Forli, S., Hard, W.E., Halliday, S., Belew, R. & Olson, A.J. (2010). AutoDock Version 4.2. In the Scripps Research Institute Molecular Graphics Laboratory Department of Molecular Biology.
- Nguyen, P.L. & Cho, J. (2021). Pathophysiological roles of histamine receptors in cancer progression: implications and perspectives as potential molecular targets. *Biomolecules*. **11(1232)**: 1–26.
- Nogrady, T. (1992). *Kimia Medisinal: Pendekatan secara Biokimia (2nd ed.)*. ITB. Bandung.
- Ohashi, R., Watanabe, R., Esaki, T., Taniguchi, T., Torimoto-katori, N., Watanabe, T., Ogasawara, Y., Takahashi, T., Tsukimoto, M. & Mizuguchi, K. (2019). Development of simplified in vitro p - glycoprotein substrate assay and in silico prediction models to evaluate transport potential of p - glycoprotein. *Molecular Pharmaceutics*. **16(5)**: 1851-1863.
- Ohta, K., Hayashi, H., Mizuguchi, H., Kagamiyama, H., Fujimoto, K. & Fukui, H. (1994). Site-directed mutagenesis of the histamine H1 receptor: roles of aspartic acid107, asparagine198 and threonine194. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. **203(2)**: 1096-1101.
- Ranjith, D. & Ravikumar, C. (2019). SwissADME predictions of pharmacokinetics and drug-likeness properties of small molecules present in Ipomoea mauritiana Jacq. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*. **8(5)**: 2063-2073.
- Santoso, L.M. & Santri, D.J. (2016). *Biologi Molekuler Sel (pp. 1–268)*. Salemba Teknika. Jakarta.
- Seelig, A. (2020). P-glycoprotein: one mechanism, many tasks and the consequences for pharmacotherapy of cancers. *Frontiers in Oncology*. **10**: 576559.
- Shimamura, T., Han, G. W., Shiroishi, M., Weyand, S., Tsujimoto, H., Winter, G., Katritch, V., Abagyan, R., Cherezov, V., Liu, W., Kobayashi, T., Stevens, R. & Iwata, S. (2011). Structure of the human histamine H1 receptor complex with doxepin. *Nature*. **475(7354)**: 1-17.
- Snustad, D.P. & Simmons, M. J. (2011). *Principles of Principles of Adhesion*. 6th ed. Wiley. New York.

- Stampfer, H.G., Gabb, G.M. & Dimmitt, S.B. (2019). Why maximum tolerated dose?. *British Journal of Clinical Pharmacology*. **85**:2213–2217.
- Stryer, L. (2000). *Biokimia Vol. 1*. 4th ed. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R.L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A. & Bray, F. (2021). Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. **71**(3): 209–249.
- Surya. (2005). *Genetika Manusia (Cet. ke-8)*. Gadjadara University Press. Yogyakarta.
- The Global Cancer Observatory. (2020). *Cancer incident in Indonesia*. *International Agency for Research on Cancer*. 858: 1–2.
- Yan, Y., Wang, W., Sun, Z., Zhang, J. Z., & Ji, C. (2017). Protein–ligand empirical interaction components for virtual screening. *Journal Of Chemical Information and Modeling*. **57**(8): 1793-1806.
- Zhao, J., Hou, Y., Yin, C., Hu, J., Gao, T., Huang, X., Zhang, X., Xing, J., An, J., Wan, S. & Li, J. (2020). Upregulation of histamine receptor H1 promotes tumor progression and contributes to poor prognosis in hepatocellular carcinoma. *Oncogene*. **39**(8): 1724–1738.
-