

Simulasi Pengembangan Obat Baru pada Senyawa Apigenin, Curcumin, Fisetin, Naringenin dan Silibinin terhadap Protein Target *Phosphoinositide 3-kinases (PI3-Ks)* secara *In Silico*

Sylvie Kurniasih*, Ridwan Wijaya, Dina Mulyanti, Taufik Muhammad Fakhri.

Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Indonesia.

*sylviekurniasih@gmail.com, wiyaridwan999@gmail.com, dina.sukma83@gmail.com, taufikmuammadf@gmail.com

Abstract. The discovery and development of new drugs starts from the selection of drug work targets, then continues with the determination of compounds and performance predictions based on their chemical structure using *in silico*, followed by pre-clinical testing *in vitro* and *in vivo*, as well as clinical trials in humans to see the drug's response to the body. This study aims to determine whether the compounds apigenin, curcumin, fisetin, naringenin and silibinin can be developed into new drugs using *in silico* tests. The method used in this study was an *in silico* test using docking. Testing begins with the determination of the physicochemical properties of the test compound, it is known that 4 compounds other than silibinin meet the requirements of the Lipinski Rule of Five. Then the preparation process of the molecular structure on the website rscb.org obtained results in accordance with the RMSD value of the PI3-Ks receptor of 0.67Å, where the smaller the RMSD value, the closer the position is to the natural ligand. Then continued with the docking simulation between the PI3-Ks receptor and the test compound, the docking results are that in apigenin compounds there are 11 non-bond interactions, in curcumin compounds there are 8 non-bond interactions, in fisetin compounds there are 15 non-bond interactions, in naringenin compounds there are 7 non-bond interactions and in silibinin compounds there are 9 on-bond interactions. Then tested for toxicity, which has a moderate / medium risk, so it needs to be considered if it is going to be used as a new drug.

Keywords: *Development of new drugs, in silico, apigenin, curcumin, fisetin, naringenin and silibinin.*

Abstrak. Penemuan dan pengembangan obat baru dimulai dari seleksi target kerja obat, kemudian dilanjutkan dengan penentuan senyawa dan prediksi kinerja berdasarkan struktur kimianya menggunakan *in silico*, dilanjutkan dengan pengujian pra klinis secara *in vitro* dan *in vivo*, serta uji klinis pada manusia untuk melihat respon obat terhadap tubuh. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah senyawa apigenin, curcumin, fisetin, naringenin dan silibinin dapat dikembangkan menjadi obat baru menggunakan uji *in silico*. Metode yang digunakan pada penelitian ini yaitu uji *in silico* menggunakan docking. Pengujian diawali dengan penentuan sifat fisikokimia senyawa uji diketahui bahwa 4 senyawa selain silibinin memenuhi syarat Lipinski Rule of Five. Kemudian dilakukan proses preparasi struktur molekul pada website rscb.org didapatkan hasil yang sesuai dengan nilai RMSD reseptor PI3-Ks sebesar 0.67Å, dimana semakin kecil nilai RMSD maka semakin dekat posisinya dengan ligan alaminya. Lalu dilanjutkan dengan simulasi docking antara reseptor PI3-Ks dengan senyawa uji, hasil docking yaitu pada senyawa apigenin terdapat 11 interaksi non-bond, pada senyawa curcumin terdapat 8 interaksi non-bond, pada senyawa fisetin terdapat 15 interaksi non-bond, pada senyawa naringenin terdapat 7 interaksi non-bond dan pada senyawa silibinin terdapat 9 interaksi on-bond. Kemudian diuji toksisitasnya yakni memiliki resiko sedang/menengah, sehingga perlu dipertimbangkan jika akan dijadikan obat baru.

Kata Kunci: *Pengembangan obat baru, in silico, apigenin, curcumin, fisetin, naringenin dan silibinin*

A. Pendahuluan

Seiring berkembangnya waktu penemuan dan pengembangan obat baru kerap banyak dilakukan untuk menghasilkan produk-produk yang bermanfaat di dunia kesehatan. Penemuan dan pengembangan obat baru dimulai dari seleksi target kerja obat, kemudian dilanjutkan dengan penentuan senyawa dan prediksi kinerja berdasarkan stuktur kimianya menggunakan *in silico*, dilanjutkan dengan pengujian pra klinis secara *in vitro* dan *in vivo*, serta uji klinis pada manusia untuk melihat respon obat terhadap tubuh (Hairunnisa, 2019). Banyaknya senyawa obat yang berkhasiat namun memiliki keterbatasan membuat diperlukannya suatu pengembangan (Sari *et al.*, 2020).

Pada pengembangan obat baru ini dapat digunakan pengujian secara *in silico*, dimana pengujian ini. Studi *in silico* merupakan istilah yang digunakan pada pengujian untuk percobaan dengan memanfaatkan metode simulasi komputer. Uji *in silico* telah banyak digunakan sebagai metode yang digunakan pada peneluan awal senyawa obat baru dan untuk meningkatkan efisiensi sktivitas senyawa induk secara optimal. Manfaat uji *in silico* yaitu untuk memprediksi, memberi hipotesa, membuat penemuan baru dan memberi kemajuan baru dalam pengobatan serta terapi (Hardjono, 2013). Salah satu pengujian secara *in silico* yaitu dengan melakukan *docking* molekul kandidat senyawa obat menggunakan reseptor yang dipilih. *Docking* merupakan upaya menyelaraskan antara ligan berupa molekul kecil dengan reseptor yaitu molekul protein besar, kedua sifatnya perlu diperhatikan (Jensen, 2007).

Senyawa yang diidentifikasi yaitu apigenin, curcumin, fisetin, naringenin dan silibinin dengan protein targetnya yaitu *phosphoinositide 3-kinases* (PI3-Ks). Apigenin merupakan senyawa yang berkhasiat menurunkan tekanan darah dengan mekanisme memblok reseptor beta, sehingga detak jantung akan stabil kembali dan kontraksi jantung menurun lalu jumlah aliran darah yang dipompa menjadi lebih sedikit dan tekanan darah menjadi turun (john and Nancy, 2005). Curcumin merupakan senyawa utama yang terdapat dalam kunyit dan banyak digunakan sebagai bumbu makanan. Kunyit ini memiliki potensi sebagai antiinflamasi dan antioksidan (Nurtamin, 2014). Fisetin merupakan senyawa flavonoid yang memiliki banyak aktifitas seperti antioksidan alami, antiinflamasi, antialergi, antikanker, kardioprotektif, antiaterosklerosis, antiaging dan dapat menurunkan kadar LDL dalam plasma (Dzakwan and Priyanto, 2019). Naringenin merupakan senyawa alam golongan flavonoid dengan aktivitas penghambatan DPP-IV (Natalia, 2021). Silibinin merupakan komponen herbal alami dengan karakteristik antikanker yang bersifat multitarget (Wisnawa, 2022).

Berdasarkan latar belakang yang telah dikemukakan, maka rumusan masalah dari penelitian ini yaitu bagaimana interaksi antara kelima senyawa yang dipilih dengan protein targetnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah senyawa apigenin, curcumin, fisetin, naringenin dan silibinin dapat dikembangkan menjadi obat baru menggunakan uji *in silico*. Manfaat dari penelitian ini yaitu meningkatkan keberhasilan dalam pengembangan obat baru.

B. Metodologi Penelitian

Pada penelitian ini dilakukan pengujian toksisitas senyawa apigenin, curcumin, fisetin, naringenin dan silibinin untuk pengembangan obat baru. Tahap awal yang dilakukan yaitu penentuan sifat fisikokimia, kemudian dilanjutkan prediksi aktivitas farmakologi menggunakan way2drug.com, selanjutnya dilakukan preparasi struktur molekul pada website rcsb.org. Untuk mengetahui interaksi senyawa uji dengan reseptor dilakukan simulasi *docking* antara reseptor PI3-Ks dengan kelima senyawa uji, terakhir dilakukan prediksi toksisitas dari kelima senyawa uji melalui website preadmit.webservice.bmdrc.org.

C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Penelitian ini dilakukan simulasi komputasi menggunakan metode docking dengan protein target phosphoinositide 3-kinases (PI3-Ks) dengan kode PDB 2CHX, yang ligan alaminya yaitu N-(2,3-Dihydro-7,8-dimethoxyimidazo[1,2-C] quinazolin-5-YL)nicotinamide.

3 | Sylvie Kurniasih, *et al.*

Senyawa uji yang digunakan pada simulasi kali ini yaitu apigenin (golongan *flavones*), cucurmin (golongan *alkaloids*), fisetin (golongan *flavonols*), naringenin (golongan *flavonones*) dan silibinin (golongan *flavononols*).

Pertama-tama dilakukan penentuan sifat fisikokimia dari senyawa uji yang digunakan terhadap reseptor *phosphoinositide 3-kinases* (PI3-Ks) yang diperoleh dari swissadme.ch yang meliputi sebagai berikut :

Tabel 1. Perbandingan Senyawa Uji dengan Ligan Alami beserta Aturan Lipinski

Nama Senyawa Uji, Ligan Alami Beserta Parameter Lipinski	Bobot Molekul	Molar Refraktivitas	Lipofilitas (ClogP)	Jumlah	
				Donor Ikatan Hidrogen	Akseptor Ikatan Hidrogen
Apigenin (C ₁₅ H ₁₀ O ₅)	270.24 g/mol	73.99	1.89	3	4
Cucurmin (C ₂₁ H ₂₀ O ₆)	368.38 g/mol	102.80	3.27	2	6
Fisetin (C ₁₅ H ₁₀ O ₆)	286.24 g/mol	76.01	1.50	4	6
Naringenin (C ₁₅ H ₁₂ O ₅)	272.25 g/mol	71.57	1.75	3	5
Silibinin (C ₂₅ H ₂₂ O ₁₀)	482.44 g/mol	120.55	2.40	5	10
<i>N</i> -(2,3-Dihydro-7,8- dimethoxyimidazo[1,2- C] quinazolin-5- YL)nicotinamide	350.35 g/mol	96.38	2.67	2	5
<i>Lipinski Rule of Five</i>	<500 dalton	40-130	<5	<5	<10

Berdasarkan tabel diatas dapat disimpulkan kelima senyawa uji beserta ligan alaminya *N*-(2,3-Dihydro-7,8-dimethoxyimidazo[1,2-C] quinazolin-5-YL)nicotinamide semuanya memenuhi persyaratan *Lipinski Rule of Five* kecuali pada senyawa uji silibinin yang jumlah donor ikatan hidrogen dan akseptor hidrogennya yang berada di maksimal parameter lipinski.

Kemudian dilakukan prediksi aktivitas farmakologisnya menggunakan way2drug.com untuk menghasilkan prediksi berupa nilai Pa (*probability active*) dan Pi (*probability inactive*). Berdasarkan hasil analisis kelima senyawa uji memiliki aktivitas *anticarcinogenic* dengan nilai Pa dan Pi sebagai berikut :

Tabel 2. Potensi Aktifitas Farmakologi Senyawa Uji

Nama Senyawa	Nilai		Aktifitas Farmakologis
	Pa	Pi	
Apigenin	0,641	0,011	<i>Activity Anticarcinogenic</i>
Cucurmin	0,611	0,012	
Fisetin	0,687	0,009	
Naringenin	0,724	0,008	
Silibinin	0,704	0,008	

Tahap selanjutnya dilakukan preparasi struktur molekul dengan cara mengunduh struktur makromolekul *Protein Data Bank* phosphoinositide 3-kinases (PI3-Ks) dengan kode PDB 2CHX pada *website rcsb.org*. Kemudian dilakukan proses preparasi struktur molekul menggunakan *software Biovia Discovery Studios 2019* dengan cara menghapus molekul air agar tidak mengganggu proses *docking*, kemudian dilakukan proses pemisahan antara ligan alami dengan reseptornya. Kemudian dilanjutkan dengan menambahkan atom hidrogen agar lengkap strukturnya serta penambahan muatan agar tidak bermuatan/netral menggunakan *software Autodock Tools 1.5.7*. Dilakukan validasi dengan cara reseptor PI3-Ks yang sudah dipisahkan tadi dengan ligand alaminya yang sudah dipisahkan tadi juga untuk divalidasi dengan metode *docking*. Parameter *Root Mean Square Deviation* (RMSD) yang diperoleh harus $<2\text{\AA}$. Dilakukan run 10 (*short*) dengan *gridbox* ($46 \times 40 \times 40$) dengan koordinat (x;y;z) nya secara berturut-turut 45.465; 12.945; 30.99 serta *spacing* (angstrom) sebesar 0.375\AA . Hasil validasi metode *docking* ini meliputi :



Gambar 1 Perbandingan visualisasi ligan alami sebelum (merah) dan sesudah (kuning) dilakukan validasi

Rank	Sub-Rank	Run	Binding Energy	Cluster RMSD	Reference RMSD	Grep Pattern
1	1	9	-8.96	0.00	0.67	RANKING
1	2	10	-8.95	0.15	0.72	RANKING
1	3	3	-8.95	0.17	0.70	RANKING
1	4	8	-8.95	0.16	0.69	RANKING
1	5	6	-8.94	0.13	0.67	RANKING
1	6	2	-8.94	0.19	0.67	RANKING
1	7	7	-8.92	0.22	0.71	RANKING
1	8	4	-8.87	0.56	0.93	RANKING
1	9	5	-8.86	0.56	0.91	RANKING
1	10	1	-8.80	0.60	0.94	RANKING

Gambar 2 RMSD Hasil Validasi

Berdasarkan Gambar 2 dapat disimpulkan reseptor PI3-Ks memiliki nilai RMSD 0.67Å yang memenuhi persyaratan. Semakin kecil nilai RMSD maka akan semakin mendekati posisi ligan alaminya. Selain itu diperoleh pula nilai *free energy of binding* sebesar -8.96 kcal/mol dan nilai *inhibition constant* sebesar 268.59 nM. Semakin kecil nilai *binding energy* maka ikatan antar ligan dengan reseptornya semakin stabil.

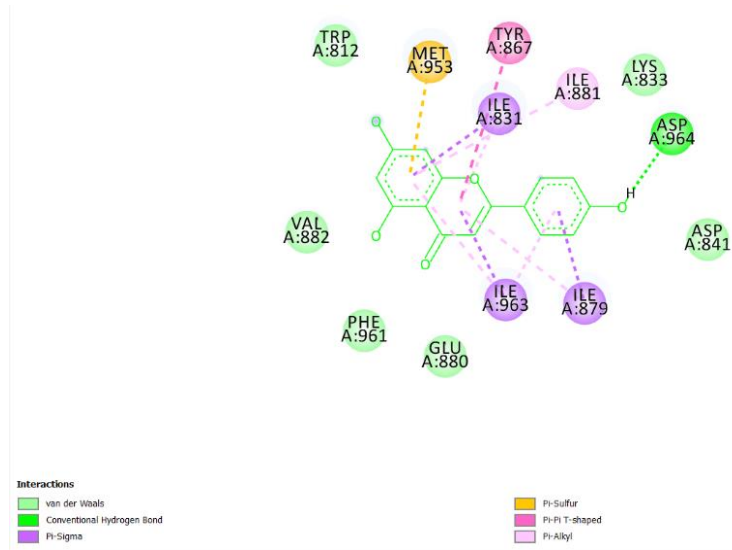
Kemudian dilakukan simulasi *docking* antara reseptor PI3-Ks dengan senyawa uji apigenin, curcumin, fisetin, naringenin dan silibinin. Menggunakan ukuran grid dan koordinat yang sama pada saat validasi *docking* sebelumnya. Simulasi *docking* ini bertujuan agar dapat mengetahui interaksi antar senyawa uji dengan reseptor yang dibandingkan afinitasnya dengan ligan alaminya. Simulasi *docking* ini menghasilkan data meliputi :

Tabel 3 Hasil Docking Senyawa Uji

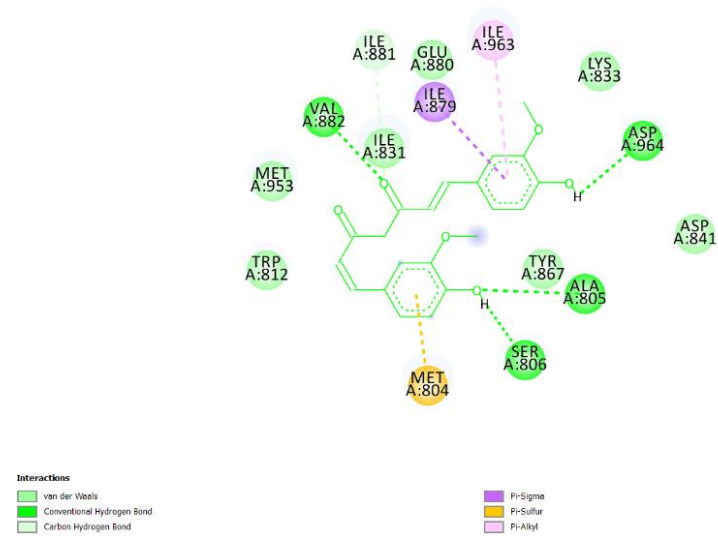
Nama Senyawa	<i>Free Energy of Binding</i>	<i>Inhibition Constant</i>
Apigenin	-0.50 Kcal/mol	3180 nM
Curcumin	-7.47 Kcal/mol	3340 nM
Fisetin	-7.99 Kcal/mol	1400 nM
Naringenin	-7.85 Kcal/mol	1770 nM
Silibinin	-8.52 Kcal/mol	565.06 nM

Dari hasil kelima senyawa uji nilai *free energy of binding* nya tidak ada yang lebih kecil dibandingkan ligan alaminya sehingga dapat disimpulkan ikatan antara senyawa uji dengan reseptornya tidak ada yang melebihi stabilnya ikatan ligan alami dengan reseptornya.

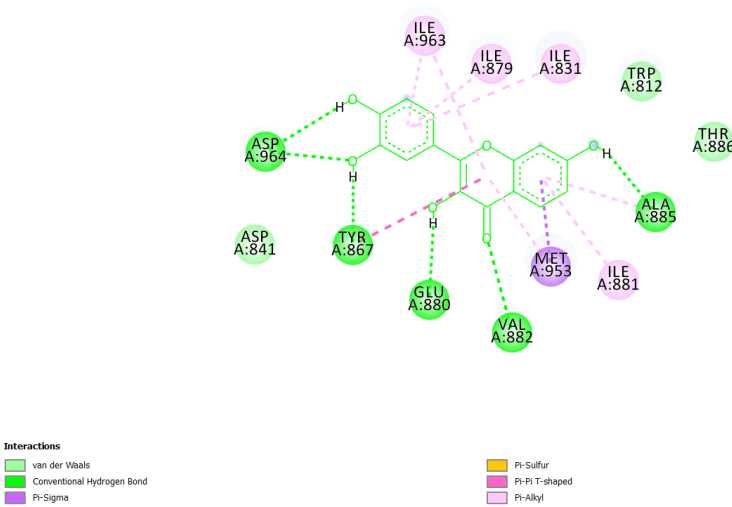
Kemudian dilakukan analisis interaksi antara kelima senyawa hasil *docking* dengan reseptor PI3-Ks yang meliputi sebagai berikut :



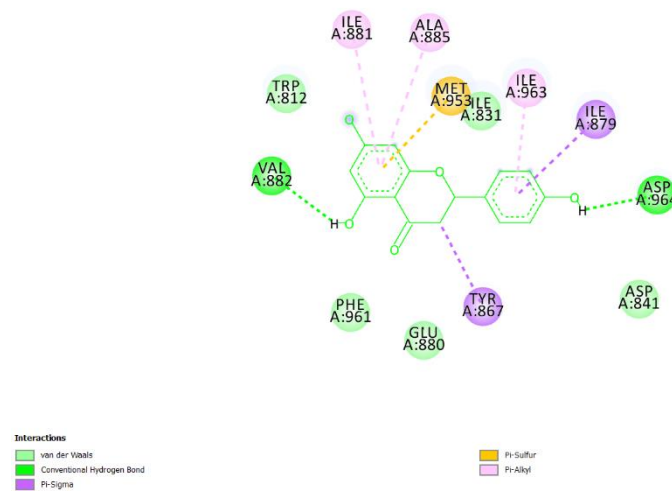
Gambar 3 Interaksi Apigenin dengan Reseptor



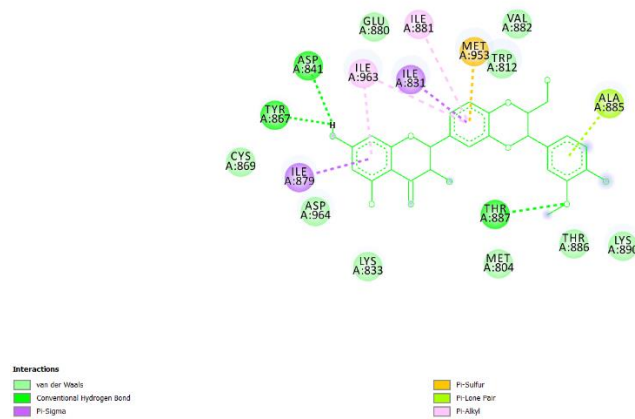
Gambar 4 Interaksi Curcumin dengan Reseptor



Gambar 5 Interaksi Fisetin dengan Reseptor



Gambar 6 Interaksi Naringenin dengan Reseptor



Gambar 7 Interaksi Silibinin dengan Reseptor

Interaksi yang terjadi pada hasil *docking* senyawa apigenin dengan reseptor PI3-Ks terdapat 11 interaksi *non-bond* yang terdiri dari 1 ikatan hidrogen dan 10 ikatan hidrofobik. Interaksi yang terjadi pada hasil *docking* senyawa curcumin dengan reseptor PI3-Ks terdapat 8 interaksi *non-bond* yang terdiri dari 5 ikatan hidrogen dan 3 ikatan hidrofobik. Interaksi yang terjadi pada hasil *docking* senyawa fisetin dengan reseptor PI3-Ks terdapat 15 interaksi *non-bond* yang terdiri dari 6 ikatan hidrogen dan 9 ikatan hidrofobik. Interaksi yang terjadi pada hasil *docking* senyawa naringenin dengan reseptor PI3-Ks terdapat 7 interaksi *non-bond* yang terdiri dari 2 ikatan hidrogen dan 6 ikatan hidrofobik. Interaksi yang terjadi pada hasil *docking* senyawa silibinin dengan reseptor PI3-Ks terdapat 9 interaksi *non-bond* yang terdiri dari 3 ikatan hidrogen dan 6 ikatan hidrofobik.

Kemudian yang terakhir dilakukan prediksi toksisitas senyawa uji di [website preadmet.webservice.bmdrc.org](http://website.preadmet.webservice.bmdrc.org) yang menghasilkan prediksi toksisitas meliputi :

Tabel 4 Prediksi Toksisitas Senyawa Apigenin

ID	Value
algae_at	0.527482

Ames_test	Mutagen
Carcino_Mouse	Negative
Carcino_Rat	Positive
daphnia_at	0.130131
hERG_inhibition	medium_risk
medaka_at	0.0280583
minnow_at	0.0152727
TA100_10RLI	positive
TA100_NA	positive
TA1535_10RLI	negative
TA1535_NA	negative

Tabel 5 Prediksi Toksisitas Senyawa Curcumin

ID	Value
algae_at	0.0188401
Ames_test	non-mutagen
Carcino_Mouse	Negative
Carcino_Rat	Positive
daphnia_at	0.0387851
hERG_inhibition	medium_risk
medaka_at	0.0030707
minnow_at	0.00751345
TA100_10RLI	negative
TA100_NA	negative
TA1535_10RLI	negative
TA1535_NA	negative

Tabel 6 Prediksi Toksisitas Senyawa Fisetin

ID	Value
algae_at	0.0495876

Ames_test	mutagen
Carcino_Mouse	negative
Carcino_Rat	positive
daphnia_at	0.200841
hERG_inhibition	medium_risk
medaka_at	0.0667019
minnow_at	0.0294925
TA100_10RLI	negative
TA100_NA	positive
TA1535_10RLI	negative
TA1535_NA	negative

Tabel 7 Prediksi Toksisitas Senyawa Naringenin

ID	Value
algae_at	0.0475596
Ames_test	Mutagen
Carcino_Mouse	Negative
Carcino_Rat	Positive
daphnia_at	0.155909
hERG_inhibition	medium_risk
medaka_at	0.0384477
minnow_at	0.0220966
TA100_10RLI	positive
TA100_NA	positive
TA1535_10RLI	negative
TA1535_NA	negative

Tabel 8 Prediksi Toksisitas Senyawa Silibinin

ID	Value
algae_at	0.00581134
Ames_test	Mutagen
Carcino_Mouse	negative
Carcino_Rat	negative
daphnia_at	0.059216
hERG_inhibition	medium_risk
medaka_at	0.00800178
minnow_at	0.0101805
TA100_10RLI	negative
TA100_NA	positive
TA1535_10RLI	negative
TA1535_NA	negative

Berdasarkan hasil prediksi toksisitas PreADMET dapat disimpulkan apigenin, curcumin, fisetin dan naringenin berpotensi bersifat karsinogenik, sedangkan pada silibinin aman. Namun jika dilihat dari inhibisi hERG pada kelima senyawa ini memiliki resiko sedang/menengah semuanya, parameter ini patut dipertimbangkan jika akan mengembangkan obat baru.

D. Kesimpulan

Berdasarkan hasil yang didapatkan, peneliti menyimpulkan bahwa senyawa apigenin, curcumin, fisetin dan narigenin berpotensi karsinogenik, sedangkan senyawa silibinin tidak berpotensi (aman). Dilihat dari hasil inhibisi hERG pada kelima senyawa memiliki resiko sedang/menengah, sehingga perlu dipertimbangkan kembali jika akan dikembangkan menjadi obat baru.

Acknowledge

Peneliti ucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada yang ibu Dr. apt. Dina Mulyanti, M.Si. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Bapak apt. Taufik Muhammad Fakhri, M.Farm. selaku Dosen Pembimbing Serta yang telah meluangkan waktu, memberikan arahan dan motivasi kepada peneliti yang sangat luar biasa dalam penyusunan Tugas Akhir. Terima kasih kepada kedua orang tua dan keluarga besar saya yang selalu mendukung dan medo'akan peneliti. Serta Ridwan Wijaya yang telah membantu saya menyelesaikan penelitian ini.

Daftar Pustaka

- [1] Dzakwan, M. and Priyanto, W. (2019). Peningkatan Kelarutan Fisetin dengan Teknik Kosolvensi. *Ejournal Parapemikir*. 8(2).
- [2] Hairunnisa. (2019). Sulitnya Menemukan Obat Baru di Indonesia. *Majalah Farmasetika* vol. 4 No. 1.

- [3] Hardjono, S. (2013). Sintesis dan Uji Aktivitas Antikanker Senyawa 1-(2-Klorobenzoiloksi)Urea dan 1-(4-4-klorobenzoiloksi)Urea. *Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*, 2(1)
- [4] Jensen, F. (2007). *Introduction to Computational Chemistry*, 2nd Ed. Denmark, Odense, 415-416.
- [5] John and Nancy. (2005). Senyawa-Senyawa Sntihipertensi dan Terapi Obat Hipertensi dalam Goodman and Gilman, Editor. *The Pharmacological Basis and Therapeutics*. Jakarta: EGC.
- [6] Naralia, A. P. (2021). Studi Komputasi Aktivitas Naringenin sebagai Inhibitor Dipeptidil Peptidase IV. *[skripsi]*
- [7] Nurtamin, T. (2014). Potensi Curcumin untuk Mencegah Ateroskklerosis. *Continuing Professional Development*. 41(8)
- [8] Sari, D. P., Abdassah, M. and Wathoni, N. (2020). Siklodekstrin Solusi Pengembangan Obat Baru. *Farmaka*. Vol. 18 No. 2
- [9] Wisnawa, A. D. F. (2022). Potensi Kurkurmin Kombinasi Silibinin [Cur-Sil]-Loaded Nanopartikel Magnetik [Fe₃O₄] Termodifikasi [Poly[Ethyelene Caprolactone]-Poly[ethyelene glycol] [PCL-PEG]] Ko-polimer sebagai Inhibitor Gen Leptin dalam Tata Laksana Kanker Paru. *Analisis CDK*. 49(1).