



# Studi Penambatan Molekuler dan Simulasi Dinamika Molekuler Senyawa Turunan Furanokumarin terhadap Reseptor Estrogen Alfa (ER- $\alpha$ ) Sebagai Anti Kanker Payudara

(Molecular docking studies and molecular dynamics simulation of furanocoumarins derivatives against estrogen receptor alpha (ER- $\alpha$ ) as an anti-breast cancer)

Lina Elfita<sup>1</sup>, Anjas Apriadi<sup>2</sup>, Supandi<sup>\*1</sup>, & Shanifa Dianmurdedi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Farmasi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta, Indonesia

<sup>2</sup>Program Studi Profesi Apoteker Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta, Indonesia

**ABSTRACT:** Breast cancer is one of the most common cancers found in the world, including Indonesia. The estrogen receptor alpha (ER- $\alpha$ ) is chosen as the main target because it is capable to regulate gene transcription and intercellular signaling pathways. The purpose of this study is to analyze the affinity and stability of the furanocoumarin derivative ligands complex bound with estrogen receptor alpha. In this study, we use in silico or computational method which is a molecular docking using AutoDock software and molecular dynamics simulation using Gromacs software. Based on the docking results, 4-Hydroxytamoxifen, the natural ligand, has a binding energy ( $\Delta G$ ) values of -11,34 kcal/mol, while the best test ligand, Bergamottin has a binding energy ( $\Delta G$ ) values of -8,98 kcal/mol. This results show that the affinity of 4-Hydroxytamoxifen is stronger than Bergamottin. The stability of the ligand-receptor bond is also confirmed by using a molecular dynamics simulation method with parameters, such as Root Mean Square Deviation (RMSD), Root Mean Square Fluctuation (RMSF), Radius of Gyration and hydrogen bonds. The results of this study show that 4-Hydroxytamoxifen has more stable bond with ER- $\alpha$ . In conclusion, 4-Hydroxytamoxifen has stronger affinity and stability in binding with estrogen receptor alpha (ER- $\alpha$ ).

**Keywords:** estrogen alpha; furanocoumarins derivate compounds; molecular docking; molecular dynamics simulation.

**ABSTRAK:** Kanker payudara menjadi salah satu jenis kanker dengan penderita terbanyak baik di dunia maupun di Indonesia, Reseptor Estrogen Alfa (ER- $\alpha$ ) menjadi target utama karena dapat mengatur transkripsi gen dan jalur persinyalan interseluler. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis afinitas dan kestabilan ikatan kompleks ligan senyawa turunan furanokumarin dengan reseptor estrogen alfa. Metode yang digunakan secara *in silico* atau komputasi yaitu penambatan molekul menggunakan *software* AutoDock dan simulasi dinamika molekul menggunakan *software* Gromacs. Hasil penambatan molekul senyawa 4-Hydroxytamoxifen sebagai ligan alami dengan nilai binding energy ( $\Delta G$ ) -11,34 kkal/mol. Sedangkan ligan uji terbaik yaitu Bergamottin dengan nilai binding energy ( $\Delta G$ ) -8,98 kkal/mol. Hal tersebut menunjukkan bahwa afinitas 4-Hydroxytamoxifen masih lebih baik daripada Bergamottin. Kestabilan ikatan ligan-reseptor dikonfirmasi dengan simulasi dinamika molekul menunjukkan 4-Hydroxytamoxifen lebih stabil berikatan dengan ER- $\alpha$  berdasarkan parameter *Root Mean Square Deviation* (RMSD), *Root Mean Square Fluctuation* (RMSF), *Radius of Gyration* dan ikatan hidrogen. 4-Hydroxytamoxifen memiliki afinitas dan kestabilannya lebih baik dalam berikatan dengan reseptor estrogen alfa (ER- $\alpha$ ).

**Kata kunci:** estrogen alfa; senyawa turunan furanokumarin; penambatan molekul; simulasi dinamika molekul.

## Pendahuluan

Kanker payudara merupakan tumor ganas pada jaringan payudara pada area lobulus dan epitel ductus. Kanker payudara menjadi salah satu jenis kanker paling umum di Indonesia [1]. Reseptor estrogen diekspresikan sekitar 70% pada kanker payudara secara berlebihan, kejadian tersebut dikenal sebagai reseptor estrogen positif (ER+) [2]. Tamoxifen merupakan obat golongan *Selective Estrogen Receptor Modulators* (SERM) yang secara

antagonis mengikat reseptor estrogen. Akan tetapi, tamoxifen dikaitkan dengan adanya efek samping berupa peningkatan risiko kanker endometrium, tromboemboli vena, dan katarak [3]. Oleh karena itu diperlukan upaya untuk menemukan senyawa anti kanker baru yang memiliki sensitivitas tinggi terhadap sel kanker dengan efek samping minimal. Beberapa senyawa fitokimia juga telah

### Article history

Received: 29 Juli 2022

Accepted: 13 Des 2022

Published: 30 Des 2022

### Access this article



**\*Corresponding Author:** Supandi

Program Studi Farmasi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta, Kecamatan Ciputat Timur, Kota Tangerang Selatan, Banten, 15412 | Email: [supandi@uinjkt.ac.id](mailto:supandi@uinjkt.ac.id)

diidentifikasi dan berpotensi sebagai senyawa antikanker [4].

Proses penemuan obat anti kanker memerlukan proses yang lama dan membutuhkan biaya yang relatif besar. Oleh karena itu, berbagai alternatif metode terus dikembangkan, salah satunya metode *Computer-aided Drug Design* (CADD) atau rancangan obat berbantuan komputer [5]. Metode komputasi yang diterapkan pada tahap awal proses desain obat menggunakan teknologi terbaru untuk melengkapi analisis eksperimental [6]. Salah satu metode CADD adalah *molecular docking* yang dapat memprediksi ikatan ligan-reseptor secara kuantitatif yang hasilnya dapat memberikan urutan berdasarkan afinitas pengikatan (*binding affinity*). Sedangkan *re-docking* atau penambatan molekuler kembali merupakan kegiatan menambatkan kembali ligan alami-reseptor yang sebelumnya sudah berikatan dengan parameter RMSD untuk verifikasi sisi aktif pengikatan pada reseptor [7]. Tahap kelanjutan proses validasi dari kegiatan penambatan molekuler diperlukan untuk melihat kestabilan pengikatan ligan-reseptor dengan melakukan *Molecular Dynamic* (MD) untuk menggambarkan gerakan, interaksi, dan dinamika pada tingkat atom dengan memilih *force field* untuk menggambarkan semua interaksi antar atom dengan mengintegrasikan persamaan Newton yang dapat memberikan gambaran posisi dan kecepatan atom setiap waktu [8].

Furanokumarin merupakan senyawa turunan kumarin dengan struktur yang terdiri dari cincin furan dan kumarin (1,2-benzopiron) [9]. Senyawa ini banyak ditemukan pada tanaman jenis jeruk dan jenis adas dengan famili Rutaceae dan Apiaceae yang diproduksi oleh tumbuhan ketika ada tekanan dari luar dan dapat melawan jamur, bakteri dan serangga atau juga dikenal sebagai pestisida alami. Aktivitas antibakteri, antijamur, anti-inflamasi, anti-alergi dan antivirusnya telah terbukti. Selain aktivitas farmakologis tersebut, furanokumarin juga memiliki sifat antikanker [10,11]. Penelitian furanokumarin dengan aktivitas antikanker yang telah dilakukan oleh Acharya et.al 2019 hanya dilakukan secara *molecular docking* dan studi in-vitro, namun belum ada penelitian terkait lebih lanjut terkait kestabilan ikatan senyawa turunan furanokumarin dengan reseptor estrogen alfa (ER- $\alpha$ ) [12]. Oleh karena itu, peneliti perlu memastikan kestabilan ikatan ligan senyawa turunan furanokumarin dengan reseptor estrogen alfa (ER- $\alpha$ ) melalui penambatan molekuler dan simulasi dinamika molekuler menggunakan *software* AutoDock dan Gromacs.

## Metode Penelitian

### Alat dan Bahan

Perangkat keras yang digunakan yaitu laptop dengan Random Access Memory (RAM) 12 Gigabyte DDR4, Processor AMD Ryzen 5 3500U dengan Radeon Vega Mobile Graphics 8 CPUs 2,1 GHz sistem Windows 10 64-bit untuk Penambatan Molekuler dan Personal Computer (PC) dengan spesifikasi sistem Ubuntu 18.04.1 LTS, AMD Ryzen 7 2700x Eight-Core Processor x 16, GNOME 3.28.2, 64-bit, HDD 1 TB terkoneksi internet untuk Dinamika Molekuler. Perangkat lunak dan *website* yang digunakan diantaranya Bank Data Protein (<https://www.rcsb.org>), PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) MarvinSketch 20.19 (<https://chemaxon.com/products/marvin>), ChemSketch 2018 (<https://www.acdlabs.com/>), AutoDock Tools yang terdiri dari MGLTools 1.5.6, Python 3.8 dan Autodock Vina (<http://autodock.scripps.edu/>), Visual Molecular Dynamic (VMD) 1.9.3 ([www.ks.uiuc.edu](http://www.ks.uiuc.edu)), Grace (<https://plasma-gate.weizmann.ac.il/Grace/>), PyMOL (<https://pymol.org>), Biovia Discovery Studio 2019 (<https://www.3ds.com/products-services/biovia/>), Open Babel (<https://open-babel.readthedocs.io/en/latest/>) dan Gromacs (<https://www.gromacs.org/>). Bahan yang digunakan diantaranya Makromolekul ER- $\alpha$ , 4-Hydroxytamoxifen, dan 31 senyawa turunan furanokumarin.

### Molecular Docking

#### Penyiapan Makromolekul/Reseptor (ER- $\alpha$ )

Makromolekul ER- $\alpha$  diunduh dari *database* protein dengan PDB ID 3ERT dalam format pdb. [13]. Kompleks makromolekul 3ERT dipisahkan dari molekul pelarut air dan ligan alami. Pengoptimasian reseptor dikerjakan dengan Autodock dengan penambahan hidrogen dan *charges* kemudian disimpan formatnya pdbqt [14].

#### Penyiapan Ligan Alami dan Ligan Uji

Ligan alami 4-Hydroxytamoxifen sebagai pembanding dan ligan uji senyawa turunan Furanokumarin didapatkan dari Pubchem dalam format sdf lalu dikonversi ke format pdb menggunakan Open Babel [15,16]. Ligan dioptimasi menggunakan AutoDock Tools dengan mengatur *torsion tree* setelah itu simpan dalam format pdbqt.

#### Simulasi *redocking* dan *docking* dengan AutoDock 4.2.6

Ligan dan Reseptor yang akan digunakan harus dioptimasi sebelumnya dengan format pdbqt. Sisi aktif pengikatan diatur dengan *gridbox* orientasi X = 31,535;

$Y = -1,631$ ;  $Z = 25,550$  dengan ukuran masing-masing 40 kemudian disimpan dalam format *gpf* setelah itu lakukan *running* AutoGrid. Tahap penambatan molekul dengan memilih reseptor dan ligan yang akan diuji lalu mengatur parameter menjadi *genetic algorithm* dengan *running* medium, selain itu atur *docking* parameter menjadi *docking* 4.2 kemudian proses *docking* dijalankan dengan AutoDock *output docking* dalam format *dlg* [17,18]. Hasil *docking* dianalisis menggunakan AutoDock Tools dengan parameter energi ikatan ( $\Delta G$ ), Konstanta inhibisi ( $K_i$ ), dan RMSD serta hasil visualisasi dengan menganalisis interaksi ligan dan asam amino.

### Visualisasi Hasil Docking dan Analisis Ro5 (Rules of Five) Lipinski

Kompleks Ligan-Reseptor dalam format *pdqt* dibuka dalam *software* Biovia Discovery Studio 2019 untuk visualisasi secara dua dimensi dan visualisasi tiga dimensi menggunakan PyMOL [19,20]. Kemampuan ligan untuk berpenetrasi melalui membran jika digunakan secara oral maka dilakukan analisis Ro5 Lipinski dengan persyaratannya terdiri dari berat molekul  $\leq 500$  Da, Akseptor Ikatan Hidrogen (AIH)  $\leq 10$ ,  $\log P \leq 5$ , dan Donor Ikatan Hidrogen (DIH)  $\leq 5$ . Analisis tersebut dikerjakan dengan *software* MarvinSketch [21,22].

### Molecular Dynamic

#### Penyiapan Reseptor dan Ligan

Reseptor ER- $\alpha$  dan ligan (senyawa terbaik turunan furanokumarin dan 4-Hydroxytamoxifen) disiapkan dari hasil *molecular docking* terbaik yang akan dilanjutkan simulasi dengan metode MD menggunakan aplikasi Gromacs [23].

#### Penyiapan Sistem

Reseptor dikonversikan dari format *pdb* menjadi format *gro*. setelah pembuatan topologi pada protein. Selanjutnya menggunakan *force field* GROMOS dan jenis air *Simple Point Charge* (SPC) untuk dipakai saat simulasi MD.

Pembuatan topologi ligan dan kompleks ligan-reseptor dan bentuk *box* diatur menjadi bentuk kubik dan kemudian dilakukan solvasi dan penambahan ion  $\text{Na}^+$  sebanyak 10 ion ditambahkan ke dalam sistem [24].

### Minimisasi Sistem

Setelah ditambahkan molekul air dan ion-ion, minimisasi sistem ini untuk memastikan bahwa sistem tidak mengalami benturan yang tidak sesuai sehingga kompleks struktur perlu di longgarkan dengan mengurangi energi potensial pada sistem sehingga dapat memenuhi persyaratan untuk simulasi. Selanjutnya ligan di *restraint* agar tetap terikat pada situs pengikatannya [24,25].

### Ekuilibrisasi

Ligan pada sistem di tahan / *restraint* agar tetap berikatan kompleks dengan protein. Kemudian pelarut dan ion dalam sistem, suhu dan tekanannya disesuaikan dengan suhu diatur menjadi 300 K dan tekanan 1 bar agar kompleks protein bisa menyesuaikan dan berjalan normal ketika proses produksi [24].

### Produksi dan Analisis Hasil MD

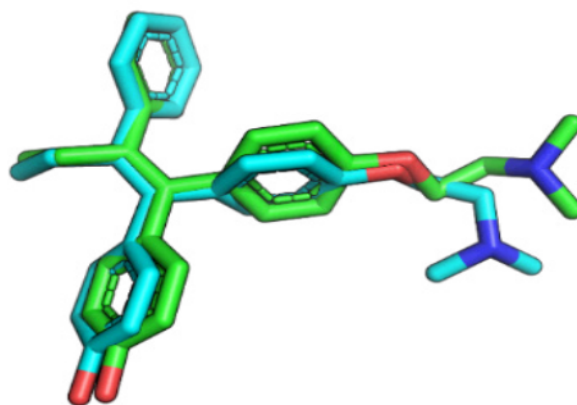
Kompleks ligan-protein disimulasikan secara dinamika molekuler sehingga didapatkan *trajectory* atau lintasan atom dari sistem kompleks ligan-protein yang berupa *frames* tertentu. Hasil produksi dapat dianalisis lebih lanjut dengan menganalisis parameter RMSD, RMSF, dan *Radius of Gyration*, serta ikatan hidrogen. Hasil lintasan atom divisualisasikan dengan menggunakan *software* VMD [25,26].

## Hasil dan Diskusi

Proses penambatan molekuler pada senyawa yang akan diuji dilakukan setelah melakukan *re-docking* pada ligan alami (4-Hydroxytamoxifen) dan resepto ER- $\alpha$ , tujuan utama *re-docking* untuk memastikan bahwa *grid box*

**Tabel 1.** Parameter penambatan molekuler kembali

| Parameter    |               |
|--------------|---------------|
| Makromolekul | Estrogen alfa |
| Grid box     | X = 31,535    |
|              | Y = -1,631    |
|              | Z = 25,550    |
| Ukuran       | 40 x 40 x 40  |
| RMSD         | 1,490 Å       |

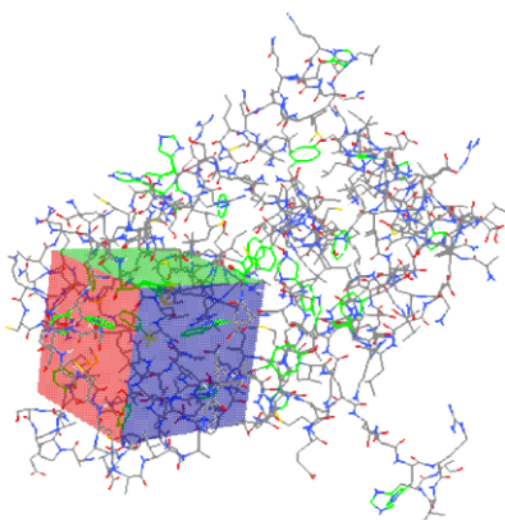


**Gambar 1.** Hijau = Koordinat ligan alami mula-mula, Cyan = Koodinat ligan alami hasil redocking

yang dipakai sudah terqualifikasi dengan parameternya yaitu nilai RMSD [18]. Hasil *re-docking* Tabel 1 dengan nilai RMSD 1,490Å dan hasil visualisasi terdapat pada Gambar 1. Nilai RMSD memenuhi syarat karena dianggap cukup menghasilkan batas konformasi dengan persyaratan nilai RMSD kurang dari 2Å [27]. *Grid box* tersebut dapat dijadikan sebagai acuan untuk proses penambatan molekul pada senyawa yang akan diuji. Hal utama dalam *docking* dengan mengetahui lokasi sisi pengikatan atau *grid box* agar dapat secara signifikan meningkatkan efisiensi proses pengikatan, sisi aktif pengikatan pada reseptor estrogen alfa (ER- $\alpha$ ) Gambar 2 [28].

Hasil dari penambatan molekul (*docking*) yaitu energi pengikatan ( $\Delta G$ ), semakin rendah energi pengikatan maka semakin tinggi afinitas pengikatan ligan ke reseptor. Selain itu, *outputnya* prediksi nilai Konstanta inhibisi (Ki)

dan RMSD [29]. Struktur senyawa dibangun dengan Chemscketch dengan hasil penambatan molekul dan parameternya sesuai Tabel 2 [30]. Idealnya, pose *docking* pertama dianggap sebagai pose terbaik dengan afinitas pengikatan yang lebih besar antara protein dan molekul ligan. Sedangkan, peneliti melakukan tiga kali pengulangan atau *triplo* untuk memastikan bahwa hasil yang didapatkan valid. Senyawa 4-Hydroxytamoxifen (TMX) sebagai ligan alami dengan  $\Delta G$  -11,34 kkal/mol nilai prediksi konstanta inhibisi (Ki) 4,97 nM. Ligan Bergamottin (BRG) dengan  $\Delta G$  -8,98 kkal/mol nilai prediksi konstanta inhibisi (Ki) 264,57 nM. Ligan Epoxybergamottin (EPBRG)  $\Delta G$  -8,6 kkal/mol, Ki 490,68 nM. Ligan 8-Geranyloxypsoralen (GRXP)  $\Delta G$  -8,43 kkal/mol dan Ki 668,80 nM. Hasil  $\Delta G$  dan Ki selalu linear dapat dilihat pada Tabel 2, semakin kecil nilai  $\Delta G$  maka nilai prediksi Ki juga semakin kecil.

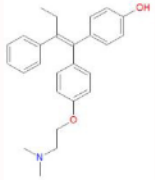
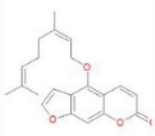
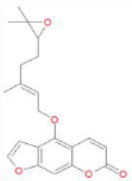
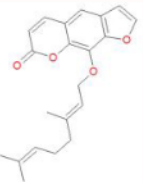


**Gambar 2.** Grid box reseptor ER- $\alpha$

Keduanya menentukan afinitas ikatan ligan-reseptor. Semakin negatif nilai  $\Delta G$  dan semakin kecil nilai  $K_i$ , semakin tinggi afinitas ligan. RMSD adalah deviasi atau penyimpangan yang terjadi pada ligan dengan adanya perbedaan konformasi sebelum dan setelah di *docking*, persyaratan nilai RMSD  $\leq 2\text{\AA}$  [27,31]. Analisis Ro5 Lipinski memenuhi semua persyaratan yang sudah ditetapkan, namun nilai Log P ligan alami tidak memenuhi persyaratan. Namun tidak masalah karena Log P hanya menunjukkan lipofilisitas suatu senyawa dan deviasi tidak terlalu tinggi [31].

Interaksi dan jenis ikatan yang terlibat dalam proses pengikatan ligan-reseptor dianalisis menggunakan *software* Biovia Discovery Studio 2019 yang ditampilkan sehingga muncul jenis asam amino yang berinteraksi beserta keterangan jenis interaksinya, sesuai pada visualisasi hasil *docking* (Gambar 3) Jumlah residu asam amino reseptor ER- $\alpha$  yang berinteraksi dengan ligan TMX yaitu sebanyak 9 residu asam amino, ligan BRG sebanyak 7 residu asam amino, ligan EPBRG sebanyak 5 residu asam amino, dan ligan GRXP sebanyak 4 residu asam amino. Residu asam amino yang berperan sesuai dengan Tabel 3. Jenis asam amino

**Tabel 2.** Tabel hasil penambatan molekuler beserta parameteranya

| Ligan                                                                                               | $\Delta G$ (kcal/mol) | Prediksi $K_i$ (nM) | RMSD ( $\text{\AA}$ ) | Residu asam amino | Analisis Ro5 Lipinski  |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|---------------------|-----------------------|-------------------|------------------------|
| <b>TMX</b><br>    | -11,21                | 6,11                | 1,490                 | 9                 | BM : 389               |
|                                                                                                     | -11,33                | 4,95                | 1,523                 |                   | DIH : 1                |
|                                                                                                     | -11,48                | 3,86                | 1,496                 |                   | AIH : 3<br>Log P : 6,2 |
| <b>Rata-rata</b>                                                                                    | -11,34                | 4,97                | 1,503                 |                   |                        |
| <b>BRG</b><br>   | -8,97                 | 264,14              | 0,824                 | 7                 | BM : 372               |
|                                                                                                     | -8,85                 | 324,55              | 1,150                 |                   | DIH : 2                |
|                                                                                                     | -9,12                 | 205,04              | 1,366                 |                   | AIH : 4<br>Log P : 2,6 |
| <b>Rata-rata</b>                                                                                    | -8,98                 | 264,57              | 1,113                 |                   |                        |
| <b>EPBRG</b><br> | 8,66                  | 448,48              | 3,105                 | 5                 | BM : 338               |
|                                                                                                     | -8,60                 | 494,27              | 1,724                 |                   | DIH : 0                |
|                                                                                                     | -8,56                 | 529,29              | 0,859                 |                   | AIH : 2<br>Log P : 4,  |
| <b>Rata-rata</b>                                                                                    | -8,6                  | 490,68              | 1,896                 |                   |                        |
| <b>GRXP</b><br>  | -8,50                 | 587,82              | 1,950                 | 4                 | BM : 338               |
|                                                                                                     | -8,34                 | 769,49              | 1,978                 |                   | DIH : 0                |
|                                                                                                     | -8,44                 | 649,09              | 1,966                 |                   | AIH : 2<br>Log P : 4,8 |
| <b>Rata-rata</b>                                                                                    | -8,43                 | 668,80              | 1,964                 |                   |                        |

**Keterangan:** TMX (4-Hydroxytamoxifen), BRG (Bergamottin), EPBRG (Epoxybergamottin), GRXP (8-Gernayloxypsoralen), BM (Berat Molekul), DIH (Donor Ikatan Hidrogen), AIH (Akseptor Ikatan Hidrogen)



**Gambar 3.** Visualisasi hasil *docking*

**Tabel 3.** Residu asam amino ER- $\alpha$  yang terikat dengan ligan

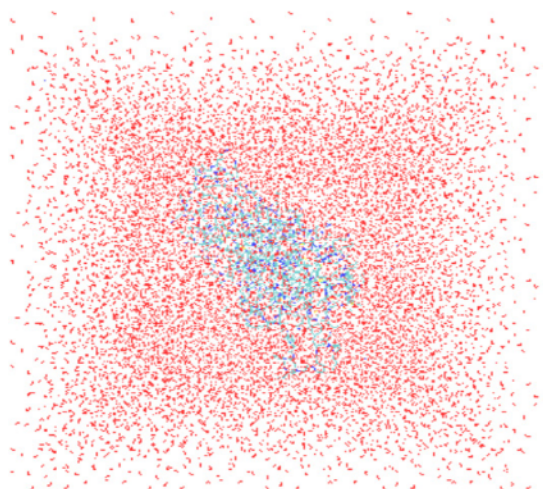
| Senyawa | Residu Asam Amino |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |            |
|---------|-------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
|         | MET<br>343        | LEU<br>346 | LEU<br>349 | ALA<br>350 | GLU<br>353 | LEU<br>384 | LEU<br>387 | MET<br>388 | LEU<br>391 | ARG<br>394 | PHE<br>404 | MET<br>421 | ILE<br>424 | LEU<br>428 | HIS<br>524 | LEU<br>525 |
| TMX     |                   |            |            | ✓          | ✓          |            | ✓          | ✓          | ✓          | ✓          |            | ✓          |            | ✓          |            | ✓          |
| BRG     | ✓                 | ✓          |            | ✓          |            | ✓          | ✓          | ✓          | ✓          | ✓          |            | ✓          | ✓          |            | ✓          | ✓          |
| EPBRG   |                   | ✓          |            | ✓          |            | ✓          | ✓          |            | ✓          |            | ✓          | ✓          |            |            | ✓          | ✓          |
| GRXP    | ✓                 | ✓          | ✓          |            |            | ✓          |            | ✓          | ✓          |            | ✓          | ✓          | ✓          |            |            | ✓          |

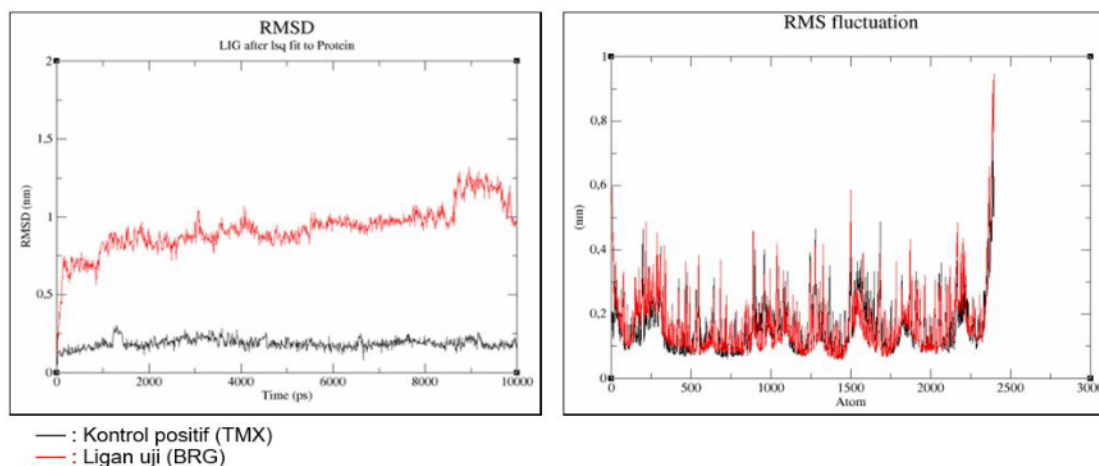
**Keterangan:** MET (Metionin), LEU (Leusin), ALA (Alanin), GLU (Asam Glutamat), ARG (Arginin), PHE (Fenilalanin), ILE (Isoleusin), HIS (Histidin). Nomor pada asam amino menunjukkan urutan letak residu.

yang berperan diantaranya pada ligan 4-Hydroxytamoxifen (TMX) terdapat asam amino ALA350, GLU353, LEU387, MET388, LEU391, ARG394, MET421, LEU428, dan LEU525 yang menjadi acuan untuk ligan uji. Sedangkan ligan Bergamottin (BRG) terdapat asam amino ALA350, LEU387, MET388, LEU391, ARG394, MET421, dan LEU525. Senyawa Epoxybergamottin (EPBRG) terdapat asam amino ALA350, LEU387, LEU391, MET421, dan LEU525 dan 8-Geranyloxypsoralein (GRXP) terdapat asam amino MET388, LEU391, MET421, dan LEU525.

Jenis ikatan dan residu asam amino yang berperan berdasarkan [Gambar 3](#). Ligan alami 4-Hydroxytamoxifen terdapat sebanyak 3 ikatan hidrogen yaitu dengan asam amino ARG394, GLU353, LEU387 berikatan dengan gugus -O, sedangkan terdapat 4 interaksi hidrofobik alifatis MET388, MET421, LEU428, LEU391 dan 5 interaksi hidrofobik aromatis dengan residu asam amino LEU387, LEU391, LEU525, ALA350, MET421. Sedangkan ligan

Bergamottin terdapat 1 ikatan hidrogen yaitu dengan asam amino ARG394 berikatan dengan gugus -O, sedangkan terdapat 7 interaksi hidrofobik alifatis LEU525, LEU384, MET388, LEU391, ILE424, MET343, MET421 dan 5 interaksi hidrofobik aromatis dengan residu asam amino ALA350, LEU346, LEU387, LEU391, HIS524. Sedangkan disisi lain terdapat 1 ikatan *unfavourable* GLU353 dengan gugus -O dan residu MET343 dengan jenis ikatan Pi-Sulfur ada gugus Sulfur di asam amino Metionin 343. Pada ligan Epoxybergamottin terdapat 5 interaksi hidrofobik alifatis LEU346, LEU391, MET421, LEU525, LEU384 dan 6 interaksi hidrofobik aromatis dengan residu asam amino PHE404, HIS524, LEU391, LEU346, ALA350, LEU387. Serta interaksi ikatan lainnya seperti interaksi Pi-Sigma pada asam amino LEU387. Ligan 8-Geranyoxypsoralein terdapat 4 interaksi hidrofobik alifatis MET343, LEU346, LEU391, LEU349 dan 4 interaksi hidrofobik aromatis dengan residu asam amino LEU384, LEU525, PHE404,

**Gambar 4.** Sistem sudah tersolvasi dan penambahan ion-ion



Gambar 5. RMSD dan RMSF hasil MD

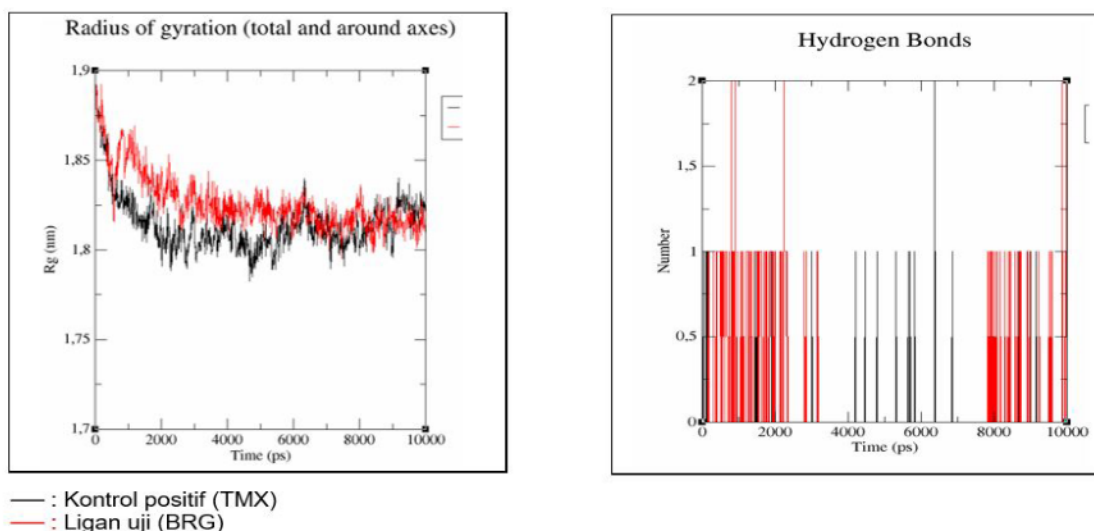
MET388. Interaksi Pi-Sulfur pada residu MET421 dan interaksi Pi-Sigma pada ILE242. Berdasarkan parameter tersebut, ligan uji paling baik yang berasal dari pengujian senyawa turunan furanokumarin menurut hasil *docking* adalah Bergamottin berdasarkan beberapa parameter diantaranya  $\Delta G$  memiliki nilai paling kecil yaitu -8,98 kkal/mol, nilai prediksi  $K_i$  264,57 nM, dan nilai RMSD 0,824Å. Selain itu dengan mempertimbangkan parameter kemampuan untuk berinteraksi dengan reseptornya seperti jumlah residu asam amino yang terlibat dalam interaksi dan jenis interaksi antara ligan Bergamottin dan reseptor ER- $\alpha$ .

Selanjutnya pada tahapan simulasi dinamika molekuler dilakukan pada senyawa uji paling baik yaitu Bergamottin. Kompleks ligan dan protein dipisahkan kemudian didapatkan reseptor ER $\alpha$ , ligan uji (Bergamottin) dan ligan pembanding (4-Hydroxytamoxifen) pdb. Pemilihan *force field* yaitu GROMOS [32]. Pembuatan topologi kompleks ligan-protein. Pembentukan *box* yaitu dengan bentuk kubik dan diatur posisi kompleks ligan-protein nya agar berada di tengah sistem, kemudian dilakukan solvasi sebanyak 17178 molekul air serta terdapat penambahan ion yaitu ion Na<sup>+</sup> sebanyak 10 ion. Sehingga pada sistem terdapat 246 residu protein, 1 residu lain (ligan), 17178 residu air, dan 10 residu ion Gambar 4 [25]. Energi Potensial harus bernilai negative, sistem memenuhi persyaratan untuk disimulasikan. Ligan kemudian harus ditahan atau restraint agar ligan dapat terikat pada posisi tempat pengikatannya. Ekuilibrasi merupakan pengkondisian sistem sama seperti keadaan di dalam tubuh yaitu suhu 300 K dan tekanan 1 bar. Ekuilibrasi fase pertama yaitu mengatur suhu. Pada kompleks ligan uji terdapat penurunan suhu yang signifikan di awal. Suhu rata-rata kompleks kontrol positif = 299,678 K. Suhu rata-rata kompleks ligan uji = 299,842

K. Ekuilibrasi fase kedua yaitu mengatur tekanan. Tekanan rata-rata kompleks kontrol positif = 6,33756 bar. Tekanan rata-rata kompleks ligan uji = 1,16148 bar [25].

Produksi simulasi dinamika molekuler (MD) berlangsung dengan waktu 10 nanosekon. Parameter yang dianalisis setelah proses produksi simulasi dinamika molekuler diantaranya RMSD, RMSF, *Radius of Gyration*, dan Ikatan Hidrogen. RMSD merupakan standar perhitungan dari deviasi struktur protein dalam sistem. Nilai RMSD 0,2-0,5 nm dapat diterima untuk sistem dapat dikatakan stabil. Pada RMSD ligan yang tertambat pada protein dalam suatu sistem, kompleks TMX-ER $\alpha$  sebagai kontrol positif lebih stabil, dapat dilihat pada garis yang berwarna hitam dengan nilai RMSD sekitar 0,24 nm hingga akhir simulasi tetap dalam rentang 0-0,25 nm, sedangkan pada sistem kompleks BRG- ER $\alpha$  terjadi kenaikan yang signifikan pada garis berwarna merah, terdapat kenaikan hingga nilai RMSD 0,75 nm kestabilan selama simulasi kurang terlihat baik dengan nilai sekitar 0,9-1,0 nm [29]. RMSF menggambarkan pergeseran konformasi setiap residu asam amino sehingga dapat mengetahui fleksibilitas protein atau reseptor. Dalam hal ini, reseptor mengalami fluktuasi akan mengubah konformasi reseptor per satuan waktu. Semakin rendah nilai RMSF, semakin stabil interaksi antara ligan dan asam amino sehingga kompleks TMX- ER $\alpha$  lebih stabil dibandingkan ligan uji berdasarkan nilai RMSF nya [33]. Nilai RMSF secara garis besar akan menggambarkan pergeseran konformasi setiap residu asam amino yang memberikan fleksibilitas protein [34]. Hasil grafik RMSD dan RMSF Gambar 5.

*Radius of Gyration* menggambarkan *compactness* struktur protein [34]. *Radius of gyration* kedua kompleks protein Gambar 6 selama simulasi terjadi kestabilan satu sama lain. Pada kompleks TMX- ER $\alpha$  grafik hitam terdapat



**Gambar 6.** *Radius of Gyration* dan ikatan hidrogen

perubahan protein menjadi bentuk lipatan terbuka pada 6500 ps tapi kembali stabil hingga akhir simulasi, namun pada kompleks BRG- ER $\alpha$  sebaliknya, protein menjadi melipat pada waktu 500 ps secara signifikan tapi perlahan lipatan protein kembali menjadi stabil. Berdasarkan analisis *Radius of Gyration*, keduanya stabil dalam hal *compactness* kompleks ligan-protein karena hanya terdapat 1 kali fluktuasi dan pergerakan kompleks ligan-protein nya menyerupai satu sama lain.

Pada interaksi ikatan hidrogen protein-ligan terdapat perbedaan interaksi saat simulasi nya dimana interaksi ikatan hidrogen ligan TMX-ER $\alpha$  lebih stabil per satuan waktu, sehingga terjadi kestabilan dan terlihat 2 ikatan hidrogen yang terdeteksi pada waktu ke 6400 ps. Sedangkan pada ligan BRG-ER $\alpha$  ikatan hidrogen lebih banyak terdeteksi termasuk jumlah ikatan hidrogennya lebih banyak, akan tetapi kurang stabil terlihat pada rentang waktu 3500-7500 ps tidak ada ikatan hidrogen sama sekali dan terdeteksi kembali pada waktu sudah mencapai 8000 ps.

Senyawa Bergamottin merupakan salah satu turunan Furanokumarin memiliki afinitas yang baik dan mendekati senyawa ligan alami berdasarkan hasil penambatan molekuler, namun pada saat melakukan simulasi dinamika molekuler ternyata kestabilannya masih lebih baik ligan alami. Namun, penelitian ini memiliki keterbatasan terkait dengan frekuensi pengujian simulasi dinamika molekuler hanya berlangsung selama satu kali simulasi dan ligan Bergamottin yang digunakan belum ada modifikasi struktur oleh karena itu peneliti menyarankan penelitian lebih lanjut dengan simulasi lebih dari satu kali dan melakukan modifikasi struktur pada senyawa ini agar dapat lebih stabil dalam berikatan dengan reseptor estrogen alfa (ER- $\alpha$ ).

## Kesimpulan

Hasil penambatan molekuler, Bergamottin menjadi senyawa paling baik berdasarkan afinitasnya di antara senyawa turunan furanokumarin lainnya berdasarkan beberapa parameter diantaranya dengan nilai  $\Delta G$  terkecil -8,98 kkal/mol, nilai RMSD terkecil dan memenuhi persyaratan yaitu 1,113Å serta residu asam amino yang berperan paling banyak berjumlah 7 asam amino diantara ligan uji lainnya juga disertai jumlah dan jenis interaksi ligan-reseptor yang lebih banyak. Kestabilan dari ikatan ligan-reseptor diverifikasi dengan metode simulasi dinamika molekuler, simulasi Bergamottin dengan kontrol positif yaitu 4-Hydroxytamoxifen hasilnya menunjukkan bahwa 4-Hydroxytamoxifen lebih stabil dalam berikatan dengan reseptor ER- $\alpha$  berdasarkan parameter RMSD, RMSF, *Radius of Gyration* dan ikatan hidrogen. 4-Hydroxytamoxifen memiliki afinitas dan kestabilannya lebih baik dalam berikatan dengan reseptor ER- $\alpha$ .

## Ucapan Terimakasih

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah Jakarta yang telah memberikan dukungan pendanaan dan fasilitas dalam penelitian. Terima kasih juga kepada Dr. apt. Eko Aditya Rifai yang telah membantu peneliti untuk membantu memecahkan masalah yang dihadapi selama proses penelitian.

## Referensi

- [1]. Kemenkes. Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran Tata Laksana Kanker Payudara. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2018. 111 p.
- [2]. Chodirah L, Aryadono T. Densitas Mamografi Metode Nilai Ambang, Kadar Estradiol, dan Polimorfisme Reseptor Estrogen 1 sebagai Prediktor Kanker Payudara. Thesis. Universitas Gadjah Mada; 2013.
- [3]. Hunt K, Robb G, Strom E, Ueno N. Breast Cancer. In: Second edi. Texas, USA: Springer Science; 2008. p. 567.
- [4]. Akhtar MS, Swamy MK. Anticancer Plants: Mechanisms and Molecular Interactions. Vol. 4, Anticancer Plants: Mechanisms and Molecular Interactions. 2018. 1–360 p. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-8417-1>
- [5]. Ou-Yang SS, Lu JY, Kong XQ, Liang ZJ, Luo C, Jiang H. Computational drug discovery. *Acta Pharmacol Sin.* 2012;33(9):1131–40. <https://doi.org/10.1038/aps.2012.109>
- [6]. Gore M, Jagtap UB. Computational Drug Discovery and Design. New York, USA: Humana Press; 2018. 491 p.
- [7]. Bitencourt-Ferreira G, de Azevedo WF. Docking Screens for Drug Discovery. In: Filgueira W, editor. *Methods in Molecular Biology*. New York, USA: Humana Press; 2019. p. 189–202.
- [8]. Sharma S. Molecular Dynamic Simulation of Nanocomposites Using Biovia Materials Studio, LAMMPS, and Gromacs. Amsterdam: Elsevier Inc.; 2019. 1–361 p. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816954-4.09990-3>
- [9]. Badal S, F A, Al-Dhabi N., Li A, SA, SB. Pharmacognosy : Fundamentals, Applications and Strategy. London: Elsevier Inc.; 2017. 691 p.
- [10]. Sumorek-Wiadro J, Zajac A, Maciejczyk A, Jakubowicz-Gil J. Furanocoumarins in anticancer therapy – For and against. *Fitoterapia*. 2020;142(November 2019). <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2020.104492>
- [11]. Cao D, Liu Y, Yan W, Wang C, Bai P, Wang T, et al. Design, Synthesis, and Evaluation of in Vitro and in Vivo Anticancer Activity of 4-Substituted Coumarins: A Novel Class of Potent Tubulin Polymerization Inhibitors. *J Med Chem.* 2016;59(12):5721–39. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.6b00158>
- [12]. Acharya R, Chacko S, Bose P, Lapenna A, Pattanayak SP. Structure Based Multitargeted Molecular Docking Analysis of Selected Furanocoumarins against Breast Cancer. *Sci Rep.* 2019;9(1):1–13. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-52162-0>
- [13]. Shiau AK, Barstad D, Loria PM, Cheng L, Kushner PJ, Agard DA, et al. The structural basis of estrogen receptor/coactivator recognition and the antagonism of this interaction by tamoxifen. *Cell.* 1998;95(7):927–37. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81717-1](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81717-1)
- [14]. Huey R, Morris GM, Forli S. Using AutoDock 4 and AutoDock Vina with AutoDockTools: A Tutorial. *Scripps Res Inst Mol.* 2012;32.
- [15]. Kim S, Chen J, Cheng T, Gindulyte A, He J, He S, et al. PubChem in 2021: New data content and improved web interfaces. *Nucleic Acids Res.* 2021;49(D1):D1388–95. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa971>
- [16]. O'Boyle NM, Banck M, James CA, Morley C, Vandermeersch T, Hutchison GR. Open Babel: An Open chemical toolbox. *J Cheminform.* 2011;3(10):33. <https://doi.org/10.1186/1758-2946-3-33>
- [17]. Morris GM, Ruth H, Lindstrom W, Sanner MF, Belew RK, Goodsell DS, et al. Software news and updates AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *J Comput Chem.* 2009;30(16):2785–91. <https://doi.org/10.1002/jcc.21256>
- [18]. Ferreira LG, Dos Santos RN, Oliva G, Andricopulo AD. Molecular docking and structure-based drug design strategies. *Molecules.* 2015;20(7):13384–421. <https://doi.org/10.3390/molecules200713384>
- [19]. BIOVIA. Dassault Systèmes, Biovia Discovery Studio 2019 [Internet]. San Diego: Dassault Systèmes; 2022. Available from: <https://3ds.com/products-services/biovia/products>
- [20]. Schrödinger L, Delano WL. PyMOL [Internet]. 2020. Available from: <http://www.pymol.org/pymol>
- [21]. Lipinski CA. Rule of five in 2015 and beyond: Target and ligand structural limitations, ligand chemistry structure and drug discovery project decisions. *Adv Drug Deliv Rev.* 2016;101:34–41. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.04.029>
- [22]. Chemaxon. Marvin was used for analysis Lipinski's Rules of Five, Marvin 20.19 [Internet]. ChemAxon; 2022. Available from: <https://www.chemaxon.com>
- [23]. Pall S, Abraham MJ, Kutzner C, Hess B, Lindahl E. Tackling Exascale Software Challenges in Molecular Dynamic Simulation with GROMACS. *Lect Notes Comput Sci (including Subser Lect Notes Artif Intell Lect Notes Bioinformatics)*. 2015;8759:3–27. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-15976-8>
- [24]. Lemkul J. Molecular Simulation Methods with Gromacs. *Gromacs.org.* 2015;1–14. Available from: <http://www.gromacs.org/@api/deki/files/198/=gmx-tutorial.pdf>
- [25]. Lemkul J. From Proteins to Perturbed Hamiltonians: A Suite of Tutorials for the GROMACS-2018 Molecular Simulation Package. *Living J Comput Mol Sci.* 2019;1(1):1–53. <https://doi.org/10.33011/livecoms.1.1.5068>
- [26]. Humphrey W, Dalke A, Schulten K. VMD: Visual molecular dynamics. *J Mol Graph.* 1996;14(1):33–8. [https://doi.org/10.1016/0263-7855\(96\)00018-5](https://doi.org/10.1016/0263-7855(96)00018-5)
- [27]. Lohning AE, Levonis SM, Williams-Noonan B, Schweiker SS. A Practical Guide to Molecular Docking and Homology Modelling for Medicinal Chemists. *Curr Top Med Chem.* 2017;17(18). <https://doi.org/10.2174/1568026617666170130110827>
- [28]. Meng XY, Zhang HX, Mezei M, Cui M. Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. *Curr Comput Aided Drug Des.* 2011;7(2):146–57. Available from: <https://www.ingentaconnect.com/content/ben/cad/2011/00000007/00000002/art00008%0Ahttps://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3624763/pdf/nihms412728.pdf>
- [29]. Vanhaelen Q. Computational Methods for Drug Repurposing [Internet]. Vol. 1903. New York, USA: Springer Science; 2019. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8955-3>
- [30]. ACD/ChemSketch. Version 2018. In Toronto, Canada: Advanced Chemistry Development, Inc. (ACD/Labs); Available from: [www.acdlabs.com](http://www.acdlabs.com).
- [31]. Klebe G. Drug Design : Methodology, Concepts and Mode-of-Action. Vol. 1. London: Springer-Verlag Berlin; 2013. 135–140 p. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394447-4.10015-X>
- [32]. Oostenbrink C, Villa A, Mark AE, Van Gunsteren WF. A biomolecular force field based on the free enthalpy of hydration and solvation: The GROMOS force-field parameter sets 53A5 and 53A6. *J Comput Chem.* 2004;25(13):1656–76. <https://doi.org/10.1002/jcc.20090>
- [33]. Rex R. Quantification of structure/dynamics correlation of globular proteins. 2009;(September):1–34.
- [34]. Chinnasamy S, Selvaraj G, Kaushik AC, Kaliyandurai S, Chandrabose S, Singh SK, et al. Molecular docking and molecular dynamics simulation studies to identify potent AURKA inhibitors: assessing the performance of density functional theory, MM-GBSA and mass action kinetics calculations. *J Biomol Struct Dyn.* 2020;38(14):4325–35. <https://doi.org/10.1080/07391102.2019.1674695>



Copyright © 2022 The author(s). You are free to share (copy and redistribute the material in any medium or format) and adapt (remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially) under the following terms: Attribution — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; ShareAlike — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original (<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)