

Mengungkap Aktivitas Antikanker Senyawa Dihidrokaempferida secara In Silico

Arif Fadlan^{1*}, Tri Warsito¹ dan Sarmoko²

¹Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Analitika Data, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya

²Departemen Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan doking molekular dihidrokaempferida terhadap DAPK1 yang dilanjutkan dengan prediksi ADMET. Doking molekular dilakukan terhadap makromolekul DAPK1 dengan kode 5AUX dan 5AV3 melalui preparasi dihidrokaempferida, preparasi DAPK1, simulasi doking molekular dihidrokaempferida, visualisasi hasil doking, dan analisis ADMET. Hasil doking molekular dihidrokaempferida memberikan nilai afinitas ikatan berturut-turut sebesar -6,9 kkal/mol terhadap makromolekul 5AUX dan sebesar -5,7 kkal/mol terhadap makromolekul 5AV3. Dihidrokaempferida memiliki profil penyerapan, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas yang cukup baik berdasarkan hasil analisis prediksi ADMET.

Kata kunci: antikanker; dihidrokaempferida; doking molekular; ADMET

ABSTRACT

This study aims to perform molecular docking of dihydrokaempferide and to predict the ADMET profiles of dihydrokaempferide. The molecular docking was conducted on DAPK1 macromolecules (5AUX and 5AV3) by preparation of dihydrokaempferide, preparation of DAPK1, docking simulation of dihydrokaempferide, visualization of docking results, and ADMET analysis. The molecular docking of dihydrokaempferide produced a binding affinity value of -6.9 kcal/mol for 5AUX and of -5.7 kcal/mol for 5AV3. The ADMET prediction indicated dihydrokaempferide had good physicochemical properties according to the criteria of absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicity.

Keywords: anticancer; dihydrokaempferide; molecular docking; ADMET

Received: 31-08-2021, **Accepted:** 25-02-2022, **Online:** 12-03-2022

PENDAHULUAN

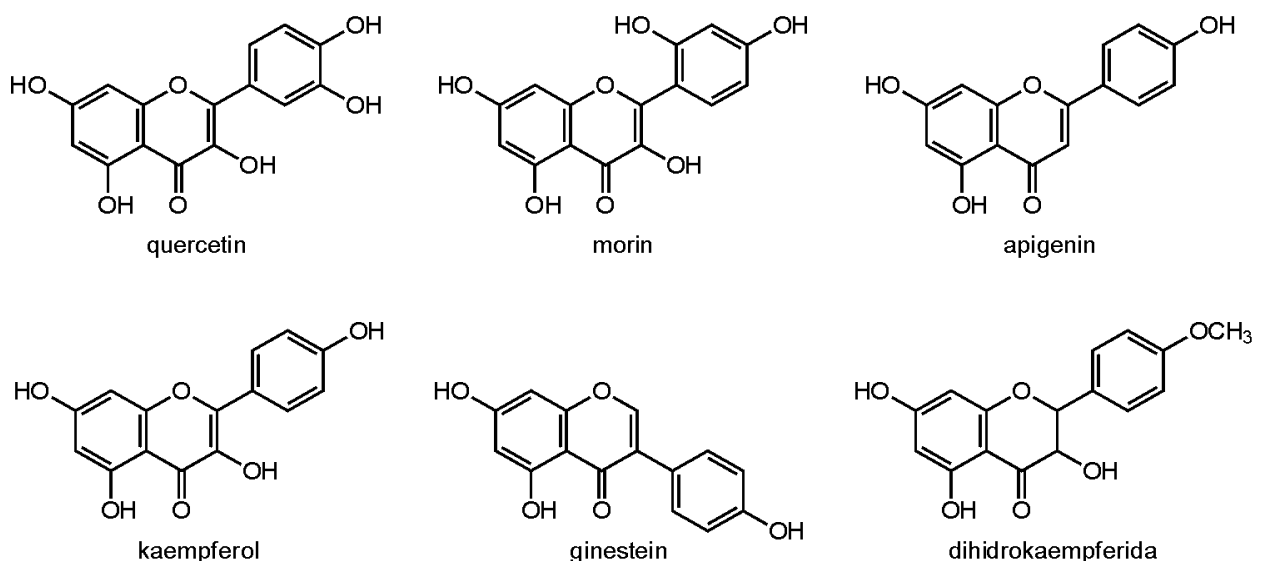
Flavonoid adalah kelompok senyawa metabolit sekunder dengan struktur polifenol yang umum ditemui dalam buah dan sayuran (Kapoor dkk., 2021). Flavonoid terbagi menjadi beberapa jenis diantaranya adalah isoflavon, neoflavonoid, flavon, flavonol, flavanonol, flavanol atau katekin, antosianin, dan kalkon. Flavonoid menunjukkan berbagai aktivitas biologis seperti anti-oksidan, anti bakteri, anti virus, anti penuaan, anti-inflamasi, anti-mutagenik, anti-karsinogenik, agen penghambat lipoksigenase, dan dapat memodulasi fungsi enzim (Wang dkk., 2018). Flavonoid juga dilaporkan berperan sebagai inhibitor protein kinase (Safe dkk., 2021).

Protein kinase adalah kinase serine/treonin yang berperan dalam fosforilasi gugus hidroksil residu serin dan treonin dalam protein sel. Umumnya protein-protein ini berperan penting dalam beberapa peralihan atau perubahan jalur sinyal. Protein kinase diketahui terlibat

*Corresponding author:
afadlan@chem.its.ac.id

dalam fosforilasi lebih dari 300 substrat. Protein kinase dilaporkan terlibat dalam hampir semua peristiwa seluler seperti ekspresi gen, sintesis dan degradasi protein, perkembangan siklus sel, dan proses diferensiasi sel. Protein kinase diketahui dapat meningkatkan fenotipe kanker dengan memblokir apoptosis dan secara bersamaan merangsang pertumbuhan sel. Hiperaktivasi dan ekspresi protein kinase yang berlebihan terkait dengan sejumlah kanker seperti kanker payudara, paru-paru, prostat, kolorektal, ginjal, serta hematologi (Kannaiyan & Mahadevan, 2018).

Death-associated protein kinase 1 (DAPK1) adalah protein kinase serin/treonin subfamili Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase (CaMK) (Zhao dkk., 2019). DAPK1 berperan sebagai penekan tumor dan dapat memediasi apoptosis dan autofagi. Oleh karena itu, DAPK1 berhubungan erat dengan berbagai penyakit kanker dan penyakit neurodegeneratif. DAPK1 dilaporkan berikatan dengan flavonoid melalui mode pengikatan A dan B. Mode pengikatan A melibatkan quercetin dan morin sedangkan mode pengikatan B sesuai untuk apigenin, kaempferol, dan genistein (Gambar 1) (Yokoyama dkk., 2015). Hasil penelitian menunjukkan bahwa morin memiliki afinitas yang tinggi akibat adanya interaksi ionik antara gugus 2-hidroksil dan Lys-42 (Zhao dkk., 2019). Hasil penelitian juga menyatakan bahwa gugus 2',-3',- dan 4'-OH berperan penting dalam pengikatan dengan DAPK1 sementara interaksi yang melibatkan gugus 2'-OH lebih efektif dari pada 3'-OH (Yokoyama dkk., 2015). Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini bertujuan untuk melakukan docking molekuler dihidrokaempferida yang memiliki kerangka dasar flavonoid yang sama sebagaimana quercetin, morin, apigenin, kaempferol, dan genistein terhadap DAPK1. Proses docking yang dilakukan meliputi preparasi dihidrokaempferida, preparasi DAPK1, simulasi docking molekuler dihidrokaempferida, dan visualisasi hasil docking. Penelitian juga melakukan analisis ADMET untuk mengetahui profil fisikokimia dihidrokaempferida.



Gambar 1. Struktur Quercetin, Morin, Apigenin, Kaempferol, Ginestein, Dihidrokaempferida

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan dengan hawlett packard sistem operasi Windows 10 64-bit prosesor Intel® Core™ i5-8265U CPU @ 1.60 GHz RAM 8 GB Radeon 530 Series.

Preparasi Kaempferida dan Ligan Alami Kaempferol

Struktur dua dimensi (2D) dihidrokaempferida lengkap dengan atom hidrogen digambar dengan MarvinSketch. Struktur 2D yang diperoleh kemudian dikonversi menjadi bentuk tiga dimensi (3D) dengan perangkat lunak yang sama dan dipastikan seluruh atom hidrogen yang

terikat teramati. Selanjutnya, minimisasi energi dilakukan dengan medan gaya MMFF94 yang dilanjutkan dengan protonasi pada pH 7,40, dan struktur 3D dihidrokaempferida disimpan dalam format .sdf. Ligan alami kaempferol (KMP) diekstrak dari makromolekul 5AUX dan 5AV3 yang diunduh dari wwPDB melalui PyMOL dalam bentuk 3D. Konversi file dihidrokaempferida dan KMP dari format .sdf menjadi .pdbqt dilakukan dengan perangkat lunak PyRx-0.8 (Autodock Vina).

Preparasi Protein DAPK1

Kristal protein DAPK1 kode 5AUX dan 5AV3 yang mengandung ligan alami KMP dengan resolusi masing-masing sebesar 1,5 Å dan 1,9 Å dari bank data protein (*protein data bank*, PDB) (Berman, dkk. 2007) disiapkan dengan perangkat lunak PyMOL. Preparasi dilakukan dengan penghapusan molekul air dan ligan alami KMP yang terikat pada rangkaian makromolekul protein yang dilanjutkan dengan penambahan atom hidrogen polar pada struktur protein. Struktur 3D protein yang diperoleh disimpan dalam format .pdb dan dikonversi menjadi format .pdbqt dengan perangkat Autodock Vina (Trott dan Olson, 2009) dalam PyRx (Dallakyan dan Olson, 2015).

Docking Molekuler

Docking molekuler dilakukan dengan perangkat lunak PyRx (Autodock Vina) (Trott dan Olson, 2009). Docking ulang (*redocking*) dilakukan dengan ligan alami KMP dan docking silang dilakukan dengan kaempferida. Docking molekuler dilakukan dengan ruang (*grid box*) pada koordinat sumbu X = -22,748 Å, Y = 2,4218 Å, Z = -11,7748 Å dan dengan ukuran grid X = 10,0558 Å, Y = 10,7264 Å, Z = 9,5328 Å untuk 5AUX. Sumbu docking pada X = -22,7927 Å, Y = 2,4578 Å, Z = -12,1170 Å dengan ukuran grid X = 9,4990 Å, Y = 10,7387 Å, Z = 7,1328 Å ditetapkan untuk 5AV3. Docking dilakukan secara fleksibel terhadap reseptor 5AUX dan 5AV3 yang rigid. Visualisasi dilakukan dengan perangkat lunak PyMOL dan BIOVIA Discovery Studio dan LigPlot+.

Prediksi ADMET

Profil absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, toksisitas (ADMET) dihidrokaempferida dievaluasi dengan ADMETSAR *online tool* melalui unggah struktur dalam format *simplified molecular-input line-entry system* (SMILES) (Yang, dkk. 2019).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Dihidrokaempferida dan Ligan Alami KMP

Struktur 2D dihidrokaempferida beserta atom hidrogen yang ada dilakukan dengan MarvinSketch. Struktur 2D dikonversi menjadi 3D yang dilanjutkan dengan minimisasi energi menggunakan medan gaya MMFF94 untuk memudahkan serta menstabilkan proses penyusunan ikatan selama docking molekuler (Ganesan, dkk. 2020; Jasz, dkk. 2019). Hal ini karena docking molekuler berkaitan dengan pergerakan atom dan molekul secara fisik dalam waktu yang dinamik dengan kecepatan simulasi yang sesuai dan pada ketepatan yang akurat (Mirzaei, dkk. 2015). Besarnya pH kemudian ditetapkan 7,4 yang sesuai dengan pH pada sitoplasma sel (pH~7) (Drie., 2005). Minimisasi energi dihidrokaempferida memberikan nilai sebesar 85,14 kkal/mol. Selanjutnya dihidrokaempferida disimpan dalam format .sdf dan dikonversi menjadi format .pdbqt sehingga dapat dikenali dan siap digunakan dalam docking molekuler.

Ligan alami KMP disiapkan dengan cara pengambilan ligan KMP dari makromolekul 5AUX atau 5AV3 menggunakan program PyMOL. Preparasi ligan alami KMP diawali dengan penghapusan seluruh residu makromolekul 5AUX atau 5AV3 dan hanya menyisakan ligan alami KMP yang dilanjutkan dengan optimasi sebagaimana dihidrokaempferida. Minimisasi yang

dilakukan memberikan nilai energi sebesar 74,86 kkal/mol. Ligan alami KMP dalam format *.sdf* selanjutnya dikonversi dalam format *.pdbqt*.

Preparasi Protein DAPK1

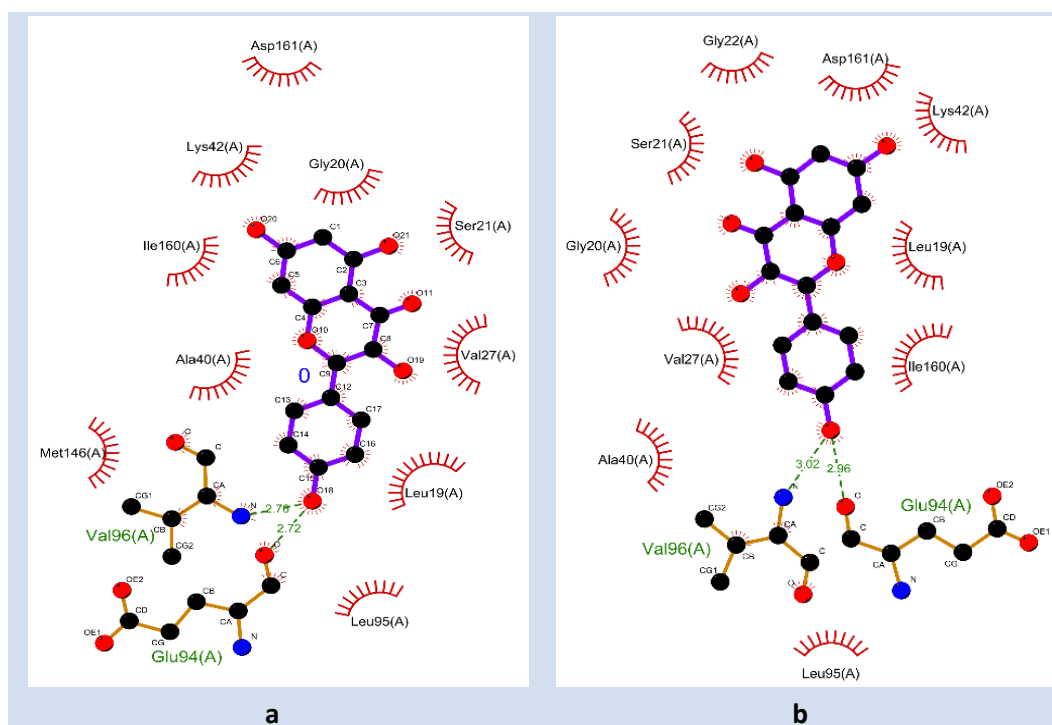
Makromolekul protein DAPK1 yang digunakan dalam penelitian ini adalah 5AUX dan 5AV3 dengan ligan alami KMP diambil dari bank data protein dan disiapkan dengan perangkat lunak PyMOL. Penghapusan molekul air dalam makromolekul 5AUX dan 5AV3 selanjutnya dilakukan untuk menghindari gangguan interaksi selama proses doking. Air dapat menjadi mediator interaksi ligan dengan reseptor, tetapi tidak dapat optimal akibat pergerakan ligan yang terbatas pada situs ikat dalam koordinat yang telah ditentukan (Cole dkk., 2005). Preparasi dilanjutkan dengan penyediaan area doking yang dilakukan dengan penghapusan ligan alami KMP pada kedua makromolekul. Penghilangan KMP menghasilkan situs ikatan pada koordinat $X = -22,748 \text{ \AA}$, $Y = 2,4218 \text{ \AA}$, $Z = -11,7748 \text{ \AA}$ untuk 5AUX dan pada koordinat $X = -22,7927 \text{ \AA}$, $Y = 2,4578 \text{ \AA}$, $Z = -12,1170 \text{ \AA}$ untuk 5AV3. Hasil preparasi makromolekul 5AUX dan 5AV3 yang diperoleh selanjutnya disimpan dalam format *.pdb* untuk kemudian dikonversi menjadi format *.pdbqt* menggunakan program PyRX (AutoDock Vina).

Doking Molekular

Proses doking molekular dilakukan dengan program PyRx (Autodock Vina) secara fleksibel untuk ligan dan makromolekul bersifat rigid. Hal ini dimaksudkan untuk mendapatkan orientasi dan konformasi dihidrokaemferida sesuai dengan situs ikat reseptor menggunakan derajat kebebasan konformasi terhadap translasi (Maia, dkk. 2020). Doking molekular dilakukan secara selektif (*selective docking*) pada situs ikat aktif ligan alami KMP dalam reseptor makromolekul 5AUX dan 5AV3 dengan pusat koordinat dan ukuran grid yang diperoleh pada tahap preparasi makromolekul. Doking molekular selanjutnya dilakukan melalui doking ulang (*re-docking*) ligan alami KMP dan doking silang (*cross docking*) dihidrokaemferida. *Redocking* dilakukan untuk membentuk kompleks ligan reseptor kembali dengan jalan mendocking ulang ligan alami KMP, sedangkan doking silang dilakukan dengan mendocking dihidrokaemferida pada koordinat ligan alami setelah membebaskan ligan alami dari reseptor (Jofily dkk, 2021; Meng dkk, 2011). Hasil doking memberikan data berupa afinitas ikatan (*binding affinity*), *pose* ikatan, dan *root-mean-square deviation* (RMSD) *upper bound* (ub) dan *lower bound* (lb). Afinitas ikatan menggambarkan derajat pengikatan reseptor terhadap ligan. Semakin kuat ikatan ligan terhadap reseptor, maka semakin baik prediksi doking molekular yang dinyatakan dengan nilai afinitas ikatan yang semakin negatif (Dallakyan dan Olson, 2015; Salahudeen dan Nishtala, 2017).

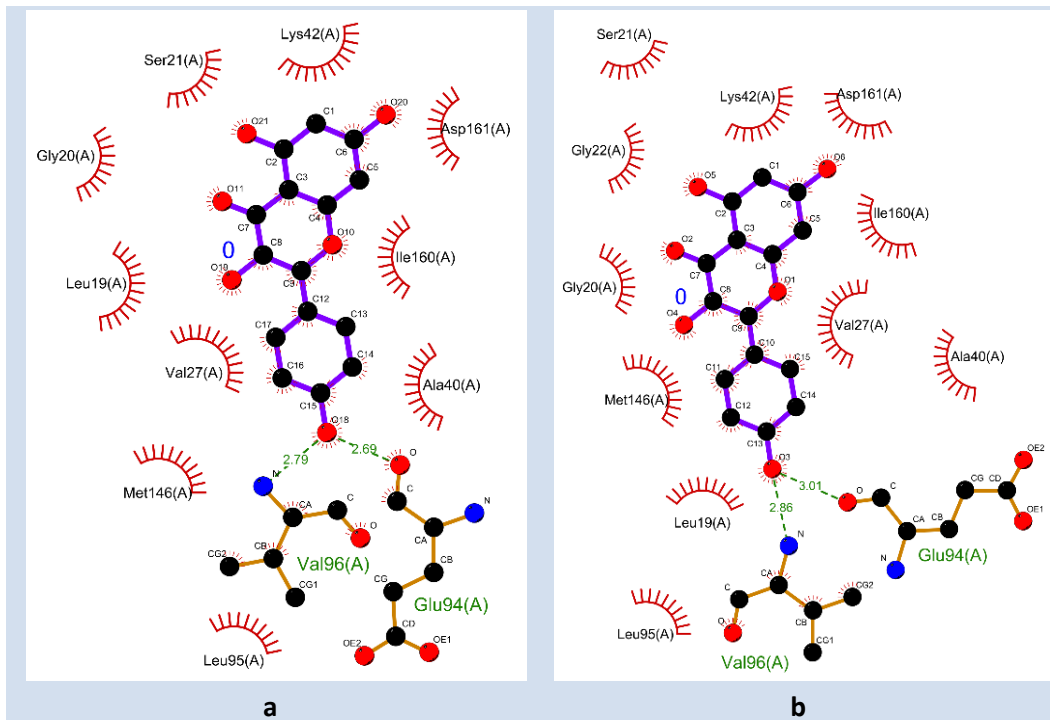
Redocking dilakukan dengan ekstraksi ligan alami KMP dari situs ikatnya dan memasukkannya kembali dalam area yang sama untuk evaluasi akurasi proses doking melalui data RMSD dan visualisasi interaksi. Dalam doking ulang, ligan alami KMP diletakkan kembali pada situs aktif 5AUX dan 5AV3. Doking ulang ligan alami KMP terhadap 5AUX dan 5AV3 memberikan sembilan *pose* terhadap 5AUX dan sebanyak tiga *pose* terhadap 5AV3. Data *pose* terbaik hasil doking ulang ligan alami KMP terhadap makromolekul 5AUX dan 5AV3 selanjutnya dibandingkan terhadap konformasi *pose native ligand* KMP dalam kristal 5AUX dan 5AV3 (ko-kristal). Hal ini dilakukan untuk menghasilkan nilai RMSD yang dapat digunakan untuk validasi proses doking yang dilakukan. RMSD merupakan jarak penyimpangan dari posisi ikatan ligan alami KMP hasil *redocking* terhadap posisi ikatan ko-kristal KMP (Nauli, 2014). Nilai RMSD diperoleh melalui penyejajaran (*alignment*) *pose* terbaik hasil *redocking* terhadap konformasi ko-kristal KMP. Penyejajaran *pose* terbaik (*pose* 1) hasil *redocking* ligan alami KMP terhadap ko-kristal KMP menghasilkan nilai RMSD sebesar 1,476 Å untuk makromolekul 5AUX dan sebesar 1,731 Å untuk makromolekul 5AV3. Nilai RMSD yang lebih kecil dari 2,0 Å mengindikasikan bahwa proses doking molekular dapat diterima (Allen dan Rizzo, 2014).

Interaksi ligan alami KMP hasil *redocking* masing-masing pada *pose* 1 terhadap 5AUX dan 5AV3 selanjutnya dibandingkan terhadap interaksi ko-kristal KMP dalam kristal makromolekul 5AUX dan 5AV3. Ligan alami KMP hasil *redocking* pada *pose* 1 menunjukkan interaksi terhadap makromolekul 5AUX melalui residu-residu Val96, Glu94, Leu95, Ala40, Val27, Gly20, Ser21, Gly22, Asp161, Lys42, Leu19, Ile160 (Gambar 2b). Interaksi yang sama diamati untuk referensi ligan ko-kristal KMP dalam kristal 5AUX (Gambar 2a). Hal yang sama juga ditemukan untuk ligan alami KMP hasil *redocking* *pose* 1 terhadap makromolekul 5AV3. Interaksi yang terjadi melalui residu-residu Val96, Glu94, Leu95, Leu19, Met146, Gly20, Gly22, Ser21, Lys42, Asp161, Ile160, Val27, dan Ala40 (Gambar 3b). Referensi ligan ko-kristal KMP juga berinteraksi dengan makromolekul 5AV3 melalui residu yang sama (Gambar 3a). Hasil analisis interaksi yang dilakukan ini mendukung data nilai RMSD yang diperoleh sebelumnya dan menguatkan bahwa proses doking yang dilakukan telah valid dan dapat digunakan pada doking silang selanjutnya.



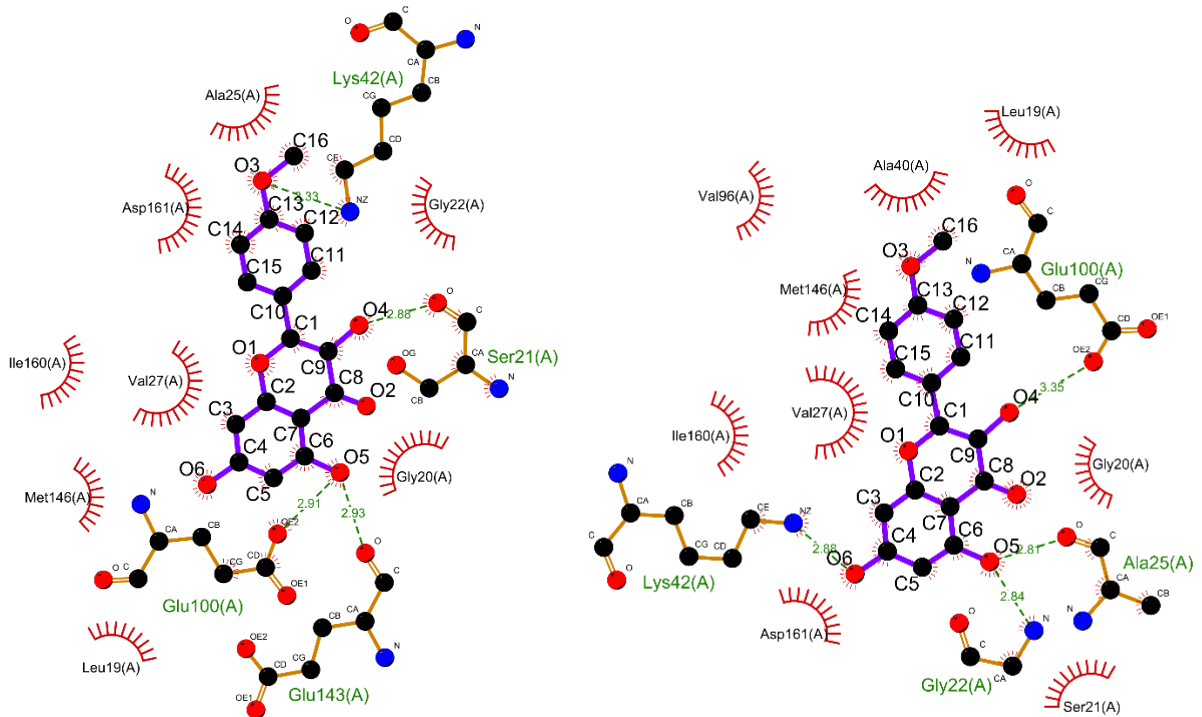
Gambar 2. Interaksi 2D Ko-kristal KMP (a) dan KMP Hasil *Redocking* (b) pada 5AUX

Docking silang dihidrokaemferida dilakukan pada situs aktif ligan alami dalam 5AUX dan 5AV3 dengan pusat koordinat dan ukuran yang telah diperoleh sebelumnya. Proses docking silang dilakukan mengikuti *redocking* ligan alami KMP terhadap 5AUX dan 5AV3. Hasil docking silang menginformasikan bahwa dihidrokaemferida memberikan *pose* sebanyak 9 *pose* dalam 5AUX dan sebanyak 5 *pose* dalam 5AV3. *Pose* terbaik (*pose* 1) dihidrokaemferida memberikan nilai afinitas ikatan sebesar -6,9 kkal/mol dalam 5AUX dan sebesar -5,7 kkal/mol dalam 5AV3. Berdasarkan hasil ini, dihidrokaemferida cukup berpotensi terhadap 5AUX dan 5AV3 meskipun nilai afinitas ikatan ligan alami KMP terhadap 5AUX dan 5AV3 lebih rendah dengan nilai masing-masing sebesar -8,8 kkal/mol dan -9,0 kkal/mol. Visualisasi 2D hasil docking silang dihidrokaemferida selanjutnya dianalisis untuk memperoleh informasi interaksi antara dihidrokaemferida terhadap makromolekul 5AUX dan 5AV3. Gambar 4 yang menyajikan visualisasi *pose* terbaik hasil docking terhadap 5AUX menginformasikan bahwa dihidrokaemferida berinteraksi dengan residu Ser21, Glu100, dan Glu143 melalui ikatan hidrogen dan dengan residu Ser21, Lys42, dan Glu100 melalui ikatan polar dalam 5AUX.



Gambar 3. Interaksi 2D Ko-kristal KMP (a) dan KMP 5 Hasil Redocking (b) pada 5AV3

Selanjutnya, interaksi melalui ikatan hidrogen dengan residu Asp161, Asn144, Lys42, Ser21, Gly22, dan Ala25 serta melalui ikatan polar dengan residu Lys42 dan Gly22 dalam 5AV3 terjadi untuk dihidrokaempferida dengan 5AV3.



Gambar 4. Visualisasi 2D Interaksi dihidrokaemferida dengan 5AUX (kiri) dan 5AV3 (kanan)

Prediksi ADMET

Analisis ADMET yang dilakukan meliputi penyerapan dalam tubuh, pengangkutan hingga mencapai reseptor, metabolisme dalam tubuh setelah distribusi, ekskresi sisa metabolisme, dan tingkat bahaya dan racun yang mungkin terjadi. Bioavailabilitas adalah target penting analisis ADMET. Analisis penyerapan dilakukan dengan meninjau parameter permeabilitas Caco-2, penyerapan intestinal manusia (HIA), kelarutan dalam air (log S), substrat (Pgps) serta inhibitor P-glikoprotein (Pgpi), dan *Blood-Brain Barrier* (BBB). Analisis distribusi dievaluasi melalui parameter inhibitor *Multidrug and Toxin Extrusion* (MATE1) dan inhibitor OCT1 dan OCT2. MATE1 diketahui mempengaruhi ekskresi urin sedangkan OCT1 dan OCT2 merupakan pengangkut kation organik (Suenaga, dkk. 2017). Hasil analisis penyerapan dan distribusi dihidrokaemferida dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Analisis Penyerapan dan Distribusi Dihidrokaemferida

Caco-2	HIA	Log S	Pgps	Pgpi	BBB	iOCT1	iOCT2	MATE	Lokalisasi subseluler
-	+	-3,22	-	-	-	-	-	-	Mitokondria

Tabel 1 menunjukkan bahwa dihidrokaemferida memiliki hasil negatif untuk semua parameter penyerapan, kecuali parameter penyerapan intestinal manusia (HIA). Profil positif dalam HIA mengindikasikan kemampuan penyerapan intestinal dihidrokaemferida melebihi 30%. Parameter BBB memberikan hasil negatif yang berarti bahwa dihidrokaemferida tidak dapat menembus sawar darah otak dan tidak mampu mencapai sistem saraf pusat (SSP). Dihidrokaemferida memiliki kelarutan yang cukup baik yang ditunjukkan oleh nilai log S yang berada dalam rentang 0 hingga -4. Parameter Pgps dan Pgpi bernilai negatif mengindikasikan bahwa dihidrokaemferida tidak berperan sebagai substrat maupun inhibitor P-glikoprotein (non substrat dan non inhibitor P-50 glikoprotein) (Mahringer, 2021). Analisis distribusi ekskresi memperlihatkan dihidrokaemferida terletak dalam mitokondria dan memiliki nilai negatif untuk parameter inhibitor OCT1 dan OCT2 dan MATE1. Dihidrokaemferida berpotensi sebagai inhibitor MATE1. MATE1 berperan sebagai mediator dalam ekskresi berbagai substrat (terutama kation organik endogen dan eksogen) di ginjal dan hati (Wittwer dkk. 2013).

Tabel 2. Hasil Analisis Metabolisme Dihidrokaemferida

iCYP1A2	iCYP2C19	iCYP2C9	sCYP2C9	iCYP3A4	sCYP3A4	iCYP
+	+	+	-	+	+	+

Analisis metabolisme dilakukan dengan melihat parameter inhibitor dan substrat sitokrom P450 (CYP) yang merupakan gabungan protein *membrane-bound*. CYP terletak pada retikulum endoplasma halus dan mengandung kofaktor heme yang dapat mempercepat metabolisme senyawa endogen dan reaksi oksidasi. CYP sebagian besar berupa enzim hepatik mikrosomal dengan beberapa merupakan enzim mitokondrial. Inhibisi CYP mengakibatkan interaksi berlawanan dari obat dan cenderung terjadi lebih cepat dari pada induksi dengan enzim (Alsanosi, dkk. 2014). Hasil analisis metabolisme pada Tabel 2 menunjukkan bahwa dihidrokaemferida memiliki aktivitas terhadap CYP1A2 inhibisi, CYP2C19 inhibisi, CYP2C9 inhibisi, CYP3A4 inhibisi, CYP3A4 substrat, dan CYP inhibisi. Hal ini berarti bahwa dihidrokaemferida bersifat inhibitor CYP dengan aktivitas kontrol inhibisi (AC50) $\leq 10 \mu\text{M}$. Nilai AC50 $> 57 \mu\text{M}$ sesuai untuk noninhibitor CYP (Zanger dan Schwab, 2013). CYP1A2 diketahui dapat membantu aktivitas metabolisme katalitik dalam tubuh, CYP2C9 dapat mempercepat metabolisme asam, dan CYP3A4 merupakan enzim sitokrom P450 yang berperan dalam metabolisme dan eliminasi lebih dari 50% obat (Zanger dan Schwab, 2013). Inhibisi enzim yang mengakibatkan berkurangnya produksi dan aktivitas enzim menyebabkan interaksi obat yang berlawanan terjadi lebih cepat dan melawan dampak positif suatu obat. Hal tersebut

menerangkan bahwa hasil negatif untuk inhibitor isoform CYP450 berdampak baik terhadap ligan target, begitu juga dengan hasil positif untuk substrat isoform CYP450 (Alsanosi, dkk. 2014).

Tabel 3. Hasil Analisis Toksisitas Dihidrokaemferida

AMES	Karsinogenik	LD50 (mg/Kg)	Hepatotoksisitas
-	-	2,57	+

Tabel 3 yang mentabulasi hasil analisis toksisitas dihidrokaemferida memberikan nilai negatif dalam pengujian karsinogenik. Hal ini menunjukkan bahwa dihidrokaemferida tidak berpotensi menyebabkan kanker. Dihidrokaemferida memberikan hasil positif pada uji hepatotoksisitas yang berarti dihidrokaemferida toksik terhadap hepar. Pengujian toksisitas berupa uji AMES menginformasikan bahwa dihidrokaemferida tidak berpotensi toksik mutagenik AMES. Dihidrokaemferida memiliki aktivitas toksisitas akut oral 2,57 mg/Kg yang termasuk dalam kategori I menurut *Hazard Communication Information Sheet* pada tahun 2018.

SIMPULAN

Docking molekular dihidrokaempferida terhadap protein DAPK1 kode 5AUX dan 5AV3 telah dilakukan. *Redocking* ligan alami KMP memberikan nilai RMSD berturut turut sebesar 1.476 Å dan 1,731Å untuk 5AUX dan 5AV3. Ligan alami KMP hasil *redocking* menunjukkan interaksi yang sama dengan ligan ko-kristal KMP referensi dalam kristal 5AUX dan 5AV3. Docking silang dihidrokaempferida pada *pose* terbaik memberikan nilai afinitas ikatan sebesar -6,9 kkal/mol terhadap makromolekul 5AUX dan sebesar -5,7 kkal/mol untuk makromolekul 5AUV. Dihidrokaemferida cukup berpotensi terhadap 5AUX dan 5AV3 meskipun memiliki nilai afinitas ikatan yang lebih besar dari ligan alami KMP. Dihidrokaempferida memiliki profil penyerapan, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas yang cukup baik berdasarkan hasil analisis prediksi ADMET.

DAFTAR RUJUKAN

- Allen, W. J., & Rizzo, R. C. (2014). Implementation of The Hungarian Algorithm to Account for Ligand Symmetry and Similarity in Structure-based Design. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 54(2), 518–529.
- Alsanosi, S., Skiffington, C., & Padmanabhan, S. (2014). Pharmacokinetic Pharmacogenomics. *Handbook of Pharmacogenomics and Stratified Medicine*, 341-364.
- Berman, H., Henrick, K., Nakamura, H., & Markley, J. L. (2007). The Worldwide Protein Data Bank (wwPDB): Ensuring A Single, Uniform Archive of PDB data. *Nucleic Acids Research*, 35(SUPPL. 1), 2006–2008.
- Cole, J. C., Nissink, J. W. M., & Taylor, R. (2005). Protein-ligand Docking and Virtual Screening with GOLD. *Virtual Screening in Drug Discovery*, 379–415.
- Dallakyan, S., & Olson, A. J. (2015). Small-Molecule Library Screening by Docking with PyRx, in *Chemical Biology: Methods in Molecular Biology*, vol. 1263, J. E. Hempel, C. H. Williams, and C. C. Hong, Eds. New York, NY: Springer New York, 243–250.
- Drie, J. H. (2005). Pharmacophore-Based Virtual Screening: A Practical Perspective. in *Virtual Screening in Drug Discovery*, J. Alvarez & B. Shoichet, Eds. Boca Raton: CRC Press.
- Ganesan, M. S., Raja, K. K., Murugesan, S., Kumar, B. K., Rajagopal, G., & Thirunavukkarasu, S. (2020). Synthesis, Biological Evaluation, Molecular Docking, Molecular Dynamics and DFT Studies of Quinoline-fluoroproline Amide Hybrids. *Journal of Molecular Structure*, 1217, 128360.
- Jász, Á., Rák, Á., Ladjászki, I., & Cserey, G. (2019). Optimized GPU Implementation of Merck Molecular Force Field and Universal Force Field. *Journal of Molecular Structure*, 1188, 227–233.

- Jofily, P., Pascutti, P. G., & Torres, P. H. M. (2021). Improving Blind Docking in DOCK6 through an Automated Preliminary Fragment Probing Strategy. *Molecules*, 26(1224), 1–14.
- Kannaiyan, R., & Mahadevan, D. (2018). A Comprehensive Review of Protein Kinase Inhibitors for Cancer Therapy. *Expert Review of Anticancer Therapy*, 18(12), 1249-1270.
- Kapoor, B., Gulati, M., Gupta, R., Singh, S., Gupta, M., Nabi, A., & Pooja, C. (2021). A Review on Plant Flavonoids as Potential Anticancer Agents. *Current Organic Chemistry*, 25(6), 737-747.
- Mahringer, A., Puris, E., & Fricker, G. (2021). Crossing The Blood-brain Barrier: A Review on Drug Delivery Strategies Using Colloidal Carrier Systems. *Neurochemistry International*, 147, 105017.
- Maia, E. H. B., Assis, L. C., de Oliveira, T. A., da Silva, A. M., & Taranto, A. G. (2020). Structure-Based Virtual Screening: From Classical to Artificial Intelligence. *Frontiers in Chemistry*, 8, 343.
- Meng, X. Y., Zhang, H. X., Mezei, M., & Cui, M. (2011). Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-based Drug Discovery. *Current Computer Aided Drug Design*, 7(2), 146–157.
- Mirzaei, H., Zarbafian, S., Villar, E., Mottarella, S., Beglov, D., Vajda, S., Paschalidis, I. C., Vakili, P., & Kozakov, D. (2015). Energy Minimization on Manifolds for Docking Flexible Molecules. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 11(3), 1063–1076.
- Nauli, T. (2014). Penentuan Sisi Aktif Selulase *Aspergillus Niger* dengan Docking Ligan. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*, 16(2), 94-100.
- Safe, S., Jayaraman, A., Chapkin, R. S., Howard, M., Mohankumar, K., & Shrestha, R. (2021). Flavonoids: Structure-function and Mechanism of Action and Opportunities for Drug Development. *Toxicological Research*, 37, 147-162.
- Salahudeen, M. S., & Nishtala, P. S. (2017). An Overview of Pharmacodynamic Modelling, Ligand-binding Approach and Its Application in Clinical Practice. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 25(2), 165–175.
- Suenaga, M., Schirripa, M., Cao, S., Zhang, W., Yang, D., Dadduzio, V., Salvatore, L., Borelli, B., Pietrantonio, F., Ning, Y., Okazaki, S., Berger, M. D., Miyamoto, Y., Jr R. G., Barzi, A., Yamaguchi, T., Loupakis, F., & Lenz, H. J. (2017). Potential Role of Polymorphisms in The Transporter Genes ENT1 and MATE1/OCT2 in Predicting TAS-102 Efficacy and Toxicity in Patients with Refractory Metastatic Colorectal Cancer. *European Journal of Cancer*, 86, 197–206.
- Trott, O., & Olson, A. J. (2009). AutoDock Vina: Improving The Speed and Accuracy of Docking with A New Scoring Function, Efficient Optimization, and Multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, 31(2), 455–461.
- Wang, T. Y., Li, Q., & Bi, K. S. (2018). Bioactive Flavonoids in Medicinal Plants: Structure, Activity and Biological Fate. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13(1), 12–23.
- Wittwer, M. B., Zur, A. A., Khuri, N., Kido, Y., Kosaka, A., Zhang, X., Morrissey, K. M., Sali, A., Huang, Y., & Giacomini, K. M. (2013). Discovery of Potent, Selective Multidrug and Toxin Extrusion Transporter 1 (MATE1, SLC47A1) Inhibitors Through Prescription Drug Profiling and Computational Modeling. *Journal of Medicinal Chemistry*, 56(3), 781–795.
- Yang, H., Lou, C., Sun, L., Li, J., Cai, Y., Wang, Z., Li, W., Liu, G., & Tang, Y. (2019). AdmetSAR 2.0: Web-service for Prediction and Optimization of Chemical ADMET Properties. *Bioinformatics*, 35(6), 1067-1069.
- Yokoyama, T., Kosaka, Y., & Mizuguchi, M. (2015). Structural Insight into the Interactions between Death-Associated Protein Kinase 1 and Natural Flavonoids. *Journal of Medicinal Chemistry*, 58(18), 7400–7408.
- Zanger, U., & Schwab, M. (2013). Cytochrome P450 Enzymes in Drug Metabolism: Regulation of Gene Expression, Enzyme Activities, and Impact of Genetic Variation. *Pharmacology & Therapeutics*, 138(1), 103-141.

Zhao, L., Yuan, X., Wang, J., Feng, Y., Ji, F., Li, Z., & Bian, J. (2019). A Review on Flavones Targeting Serine/Threonine Protein Kinases for Potential Anticancer Drugs. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 27(5), 677–685.