

Molecular Interaction Analysis of COX-2 against Curcuminoid and Xanthorizol Ligand as Anti Breast Cancer using Molecular Docking

(Analisis interaksi molekuler COX-2 dengan Ligan Kurkuminoid dan Santorizol Sebagai Obat Anti Kanker Payudara dengan Penambatan Molekuler)
Ridho Pratama^{*1}, Laksmi Ambarsari^{1,2}, Tony Ibnu Sumaryada^{2,3}

¹Department of Biochemistry, Bogor Agricultural University, Bogor, 16680, Indonesia

²Biopharmaca Research Center, Bogor Agricultural University, Bogor 16128, Indonesia

³Department of Physic, Bogor Agricultural University, Bogor 16680, Indonesia

Received : 4 June 2015; Accepted: 9 March 2016

*Corresponding author: Ridho Pratama M.Si; Departemen Biokimia, Jl. Agatis Gd. Fapet Lt. 5, Wing 5, Bogor 16680; Telp/Fax. +62251-8423267; E-mail: ridhopratama90@gmail.com

ABSTRACT

Breast cancer is one of the most common cancer in the world that occurs in women. The development process of cancer is regulated by a variety of pathways that involve various enzymes. COX-2 is an enzyme involved in the inflammatory process in further stages that will play important roles in breast cancer cells progression. The uses of natural compound from plants give new hope for breast cancer treatment with minimal side effects. Temulawak is a potential breast cancer drugs because it contains curcuminoid and xanthorizol. Curcumin and xanthorizol has been reported to have chemopreventive effect on colon cancer development. The drug that has same functions of these compounds needed to be examined with various approaches. One of the approach used in this research is molecular docking. Based on ligand analysis with Lipinski and toxicity test using ADMET, curcuminoid and xanthorizol met criteria as medicinal compounds. Curcumin had the highest binding affinity (ΔG) with the value -9.3 kcal/mol but still under commercial drug celecoxib binding affinity (ΔG) = -12,5. There were three hydrogen bonds in amino acid Arg¹⁰⁶ and Tyr³⁴¹ His⁷⁵ which were amino acids in the active side of COX-2. There were 15 amino acids that have similar ties with commercial drug celecoxib. Based on the binding affinity and binding similiarity, curcuminoid and xanthorizol were predicted as compounds that have potential as competitive inhibitor of COX-2 enzyme.

Keywords: breast cancer, COX-2, curcuminoid, xanthorizol

ABSTRAK

Kanker payudara merupakan salah satu penyakit yang umum meyerang wanita. Proses terjadinya kanker diregulasi oleh berbagai macam jalur dengan melibatkan berbagai enzim. Siklooksigenase-2 (COX-2) merupakan enzim yang terlibat dalam proses inflamasi yang pada tahapan lebih

lanjut akan membantu perkembangan sel kanker payudara. Penggunaan bahan-bahan alami dari tanaman memberikan harapan baru untuk pengobatan kanker payudara dengan efek samping yang minimal. Potensi temulawak sebagai agen obat kanker payudara dengan kandungan kurkuminoid dan santorizol terus dikaji dengan berbagai pendekatan, salah satunya dengan pendekatan penambatan molekuler. Hasil uji senyawa ligan dengan aturan Lipinski dan uji toksisitas dengan perangkat lunak ADMET didapatkan hasil bahwa senyawa kurkuminoid dan santorizol memenuhi kriteria sebagai senyawa obat. Kurkumin memiliki energi ikatan terbesar yaitu (ΔG) = -9,3 kkal/mol mendekati afinitas ikatan obat komersial selekoksib untuk pengobatan kanker payudara. Terdapat 3 ikatan hidrogen pada asam amino Arg¹⁰⁶ dan Tyr³⁴¹ His⁷⁵ yang merupakan bagian sisi aktif dari COX-2. Terdapat 15 asam amino yang memiliki ikatan yang sama dengan obat komersial selekoksib. Senyawa kurkuminoid dan santorizol diprediksi memiliki potensi sebagai inhibitor kompetitif pada enzim COX-2.

Kata kunci: kanker payudara, COX-2, kurkuminoid, santorizol

1. PENDAHULUAN

Salah satu penyakit yang menjadi perhatian dunia saat ini adalah penyakit kanker payudara. Kasus kanker payudara adalah satu dari 5 jenis penyakit kanker terbesar di dunia (WHO 2004). Di Indonesia sendiri kasus kanker payudara mencapai 8277 pada tahun 2007 (Depkes 2008). Beberapa obat sintesis telah digunakan secara komersial untuk menghambat pertumbuhan sel kanker. Namun demikian obat ini memiliki beberapa efek samping yang berbahaya bagi tubuh seperti kerontokan rambut, diare, muntah, dan gangguan tidur (Faisel 2012). Untuk menghadapi tantangan ini, saat ini banyak dikembangkan obat yang berasal dari tanaman herbal. Obat herbal menjadi kecenderungan baru dalam dunia pengobatan pada saat ini karena selain telah diketahui secara turun temurun juga memiliki aktifitas yang baik dalam menyembuhkan penyakit, namun demikian obat herbal tersebut perlu dikarakterisasi lebih lanjut dan di optimasi dengan cara mengambil senyawa murni yang berperan sebagai senyawa aktif.

Kanker payudara diketahui memiliki kaitan erat dengan inflamasi yang bersifat kronis, inflamasi dalam sel dikontrol oleh enzim siklooksigenase 2 (COX-2). Enzim yang berperan mensintesis prostaglandin ini diketahui memiliki kaitan dengan perkembangan kanker payudara. Ekspresi berlebihan pada COX-2 ditemukan pada kanker payudara (Soslow *et al.* 2000). Penghambatan pada enzim ini memiliki potensi untuk pengembangan obat antikanker payudara. Obat komersial yang telah diuji aktivitasnya adalah selekoksib. Selekoksib merupakan obat yang telah diterima oleh FDA dan memiliki efek antikanker. Namun demikian, konsumsi selekoksib memiliki efek negatif terhadap kesehatan seperti peningkatan penyakit kardiovaskular sebesar 37% (Bhala *et al.* 2013).

Temulawak (*Curcuma xanthoriza*) adalah tanaman yang sudah lama digunakan sebagai tanaman obat terhadap beberapa penyakit antara lain sebagai senyawa obat anti kanker, anti inflamasi dan menurunkan kadar kolesterol pada manusia (Kim *et al.* 2007). Tana-

man rimpang yang banyak ditemukan di pulau jawa ini tersusun atas senyawa kurkuminoid dan santorizol. Kurkumin merupakan senyawa fenol alami yang memiliki warna kuning. Senyawa ini memiliki sifat antiinflamasi dengan cara menghambat sintesis prostaglandin. Sifat anti inflamasi ini disebabkan oleh kemampuan kurkumin dalam menghambat berbagai siklus proinflamasi (Aggarwal *et al.* 2010). Santorizol merupakan senyawa yang berperan sebagai zat antiproliferasi dengan cara menginduksi proses apoptosis pada sel MDA-MB-231 (Cheah *et al.* 2008). Mekanisme interaksi kurkuminoid dan santorizol terhadap aktifitas antikanker belum diketahui secara pasti. Sehingga dibutuhkan simulasi penambatan molekuler untuk mengetahui potensi senyawa murni tersebut.

Mekanisme interaksi antara senyawa temulawak dan COX-2 dapat diketahui melalui metode penambatan molekuler. Metode ini adalah metode *in silico* yang merupakan metode gabungan ilmu struktural molekular biologi dan komputasi obat. Tujuan dari metode ini adalah untuk mendapatkan informasi interaksi struktur tiga dimensi dari protein dan ligan (senyawa uji) dengan menggunakan indikator energi bebas interaksi (ΔG). Informasi jenis ikatan dan kekuatan interaksi memberikan data yang dapat memperlihatkan mekanisme inhibisi suatu senyawa aktif terhadap reseptor spesifik yang berperan dalam pengembangan penyakit (Morris *et al.* 2008). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk pengembangan senyawa kandidat obat herbal yang berperan dalam menghambat COX-2 dengan harapan memiliki efek samping yang minimal. Penelitian ini menggunakan metode simulasi *in silico* dengan Autodock Vina. Akurasi dan kecepatan metode ini sangat efisien dalam merancang senyawa kandidat obat

sehingga dapat memudahkan proses pencarian obat menggunakan metode *in vitro* dan *in vivo*.

2. METODOLOGI

Preparasi Ligan

Senyawa kurkuminonid (kurkumin, demetoksi kurkumin dan bisdemetoksi kurkumin) dan santorizol didesain dengan menggunakan perangkat lunak MarvinSketch 6.0 dan disimpan dalam format PDB (Protein Data Bank). Struktur senyawa yang telah terbentuk kemudian dianalisis bioavailabilitasnya dengan menggunakan perangkat lunak yang diakses secara online pada laman (<http://www.scfbio-iitd.res.in/utility/lipinskifilters.jsp>) (Lipinski *et al.* 2009). Sebagai senyawa pembanding maka digunakan obat komersial selekoksisib yang didapatkan dari basis data Bank obat (www.Drugbank.ca) Toksisitas ligan kemudian dianalisis dengan akses online pada situs (<http://lmmd.ecust.edu.cn:8000/>).

Preparasi Enzim

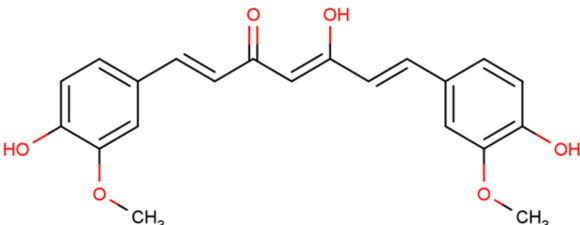
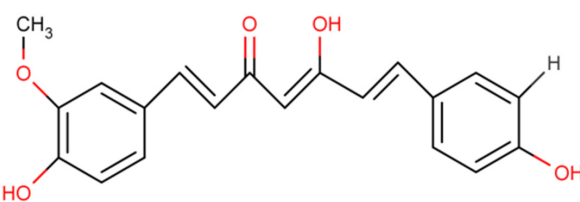
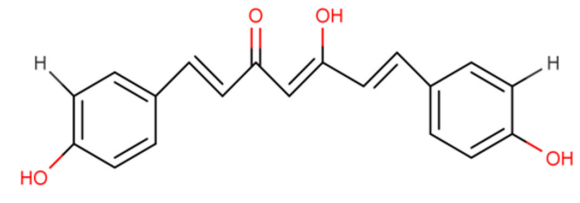
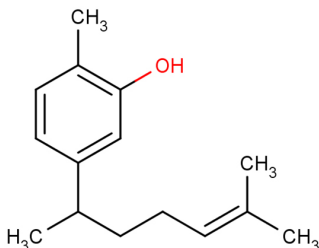
Struktur enzim COX-2 diunduh dari basis data (<http://www.rcsb.org/pdb/>) dengan ID 3LN1. Kestabilan struktur protein dianalisis dengan menggunakan perangkat lunak VMD 1.9.1 (*Virtual Molecular Dynamic*) dengan plot Ramachandran. Resolusi protein yang digunakan adalah 2.40 Å. COX-2 dan ligan dipreparasi dengan menggunakan perangkat lunak Open Babel 2.3.1 dan Autodock Tools 1.5.6 (Shi *et al.* 2012). Open Babel 2.3.1 untuk menambahkan gugus hidrogen pada ligan dan Autodock Tools 1.5.6 untuk memberikan ikatan hidrogen dan muatan Gasteiger. Hasil preparasi disimpan dalam format PDBQT.

Area penambatan (*Grid*) dimuat dengan menyesuaikan area penambatan obat pada

protein dan parameter penambatan dilakukan dengan ADT 1.5.6 dan penambatan molekular dilakukan dengan AutoDock Vina (Scripps Research Institute, USA) diasumsikan semua *rotatable bond* (ikatan siklik) dari molekul kecil dapat berotasi (fleksibel) dan makromolekul adalah tetap (*rigid*) (Morris *et al.*1998). Area penambatan dibagi menjadi 2 yaitu area penambatan yang ditarget dan area penambatan yang mencakupi semua enzim COX-2 (Blind docking). Jumlah ulangan (*Exhaustiveness*) dilakukan sebanyak 100 kali. Proses penambatan dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak PyRx. Proses penambatan dilakukan dengan Laptop ASUS Eee PC seachell series dengan spesifikasi

processor AMD Brazos APU, 1.6 GHz, Ram 4 GB, HDD 500 GB, VGA Ati Radeon HD 6320 1458 MB. Proses penambatan dilakukan dengan memasukkan data area penambatan, ligan dan reseptor menggunakan perangkat lunak PyRx. Hasil penambatan akan memberikan informasi 10 nilai energi bebas Gibbs (ΔG) dengan nilai yang negatif tertinggi pada energi bebas Gibbs (ΔG) urutan pertama. Hasil penambatan kemudian dipilih yang paling negatif energi bebas Gibbsnya (ΔG) kemudian dikonversi ke format PDB menggunakan perangkat lunak Discovery Studio 4.0. Selanjutnya dilakukan analisis 2 dimensi dengan perangkat lunak Ligplot dengan melakukan analisis ikatan hidrogen, jarak ika-

Tabel 1 Struktur kurkuminoid dan santorizol

No	Struktur	Nama IUPAC
1		Kurkumin
2		Demetoksi Kurkumin
3		Bisdemetoksi Kurkumin
4		Santorizol

tan, dan interaksi hidrofobik. Visualisasi struktur 3 dimensi dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak Pymol 1.3.

3. HASIL

Ligan Hasil Preparasi

Ligan berhasil dipersiapkan dengan menggunakan perangkat lunak MarvinSketch 6.0 seperti yang disajikan pada Tabel 1. Sebagai pembanding maka digunakan obat komersial selekoksib yang diperoleh dari basis data *Protein Data Bank* senyawa kurkuminoid dan santorizol beserta selekoksib memenuhi kriteria senyawa obat berdasarkan aturan Lipinski, serta memiliki tingkat toksisitas yang rendah berdasarkan beberapa hasil uji ADMET yang dapat dilihat pada Tabel 2.

Enzim Hasil Preparasi

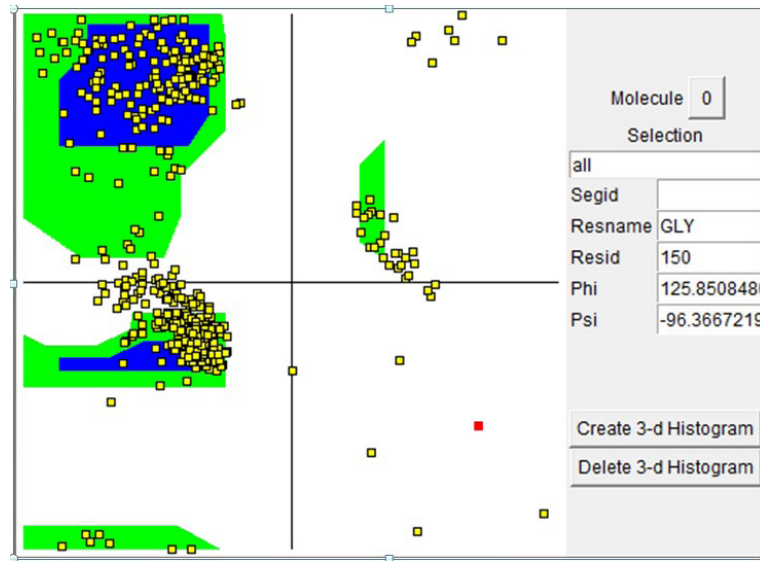
Enzim COX-2 memiliki stabilitas yang baik (Gambar 1) Berdasarkan plot Ramachandran sebanyak 96% residu penyusun asam amino enzim COX-2 yang akan diuji terdapat pada area plot analisis yang stabil, sebanyak 4% asam amino pada area cukup stabil dan tidak ada asam amino yang berada pada area plot yang tidak stabil.

Metode Penambatan yang divalidasi

Hasil uji penambatan memerlukan uji keabsahan metode baik itu terhadap area penambatan dan jumlah ulangan yang digunakan dalam proses penambatan. Hal ini dilakukan dengan cara melakukan penambatan ulang senyawa selekoksib yang sudah tertambat dengan kompleks enzim COX-2 saat proses pembuatan data

Tabel 2 Analisis toksisitas ADMET

Models	Structure			
	Curcumin	Bisdemetoksi Curcumin	Demetoksi Curcumin	Xhanthorizol
Human Ether-a-go-go-Related Gene Inhibition	Weak Inhibitor 0.9654	Weak Inhibitor 0.9165	Weak Inhibitor 0.9536	Weak Inhibitor 0.6323
AMES Toxicity	Non Inhibitor 0.8883	Non Inhibitor 0.9576	Non- Inhibitor 0.9016	Non-inhibitor 0.8091
Carcinogens	Non AMES toxic 0.9173	Non AMES toxic 0.8291	Non AMES toxic 0.8048	Non AMES toxic 0.8995
Carcinogenicity (Three-class)	Non-Carcinogens 0.8689	Non-Carcinogens 0.8092	Non-carcinogens 0.8845	Non-carcinogens 0.8229
Acute Oral Toxicity	Non required 0.6289	Non-required 0.5092	Non Required 0.5711	Non Required 0.6691
Fish Toxicity	III 0.5180	III 0.6175	IV 0.5520	III 0.8442
Tetrahymena Pyriformis Toxicity	High FHMT 0.9672	High FHMT 0.9710	High FHMT 0.9691	High FHMT 0.9715
Honey Bee Toxicity	High TPT 0.9989	High TPT 0.9895	High TPT 0.9993	High TPT 0.9806
	High HBT 0.7948	High HBT 0.8154	High HBT 0.7720	High HBT 0.8330

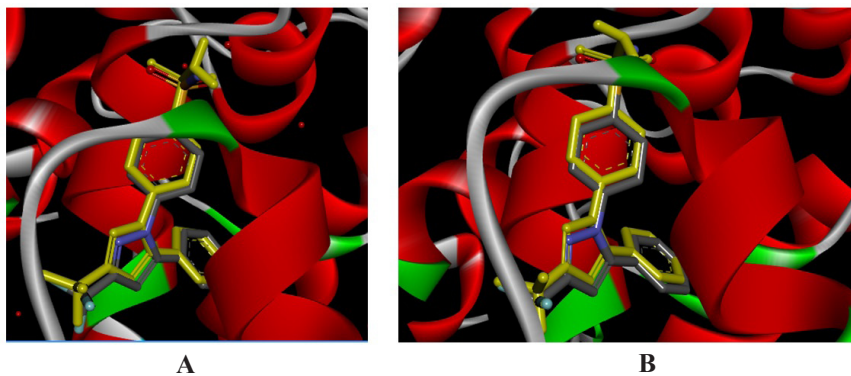


Gambar 1 Plot Ramachandran COX-2 PDB ID: 3LN1

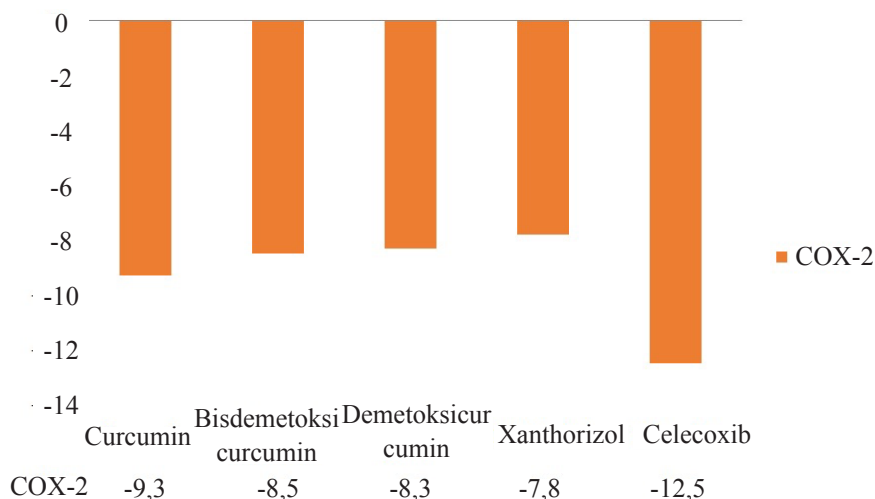
PDB hasil eksperimen dilaboratorium menggunakan kristalisasi XRD. Hasil penambatan dilakukan dengan wilayah penambatan yaitu secara terarah (*targetted*) menggunakan wilayah penambatan (*grid*) dengan pusat $center_x=30.60$, $center_y=-22.56$, $center_z=-16.76$. Hasil validasi menunjukkan nilai energi bebas Gibbs (ΔG) = -12.5 Kkal/mol pada penambatan terarah. Pada penambatan terarah terjadi 4 interaksi selekoksib dengan COX-2 pada asam amino Ser³³⁹, Gln¹⁷⁸, Leu³³⁸, dan Arg⁴⁴⁹. Struktur

3D hasil validasi metode penambatan disajikan pada Gambar 3.

Hasil penambatan molekuler antara kurkuminoid dan santorizol disajikan pada Gambar 4 dalam bentuk diagram. Kurkumin memiliki nilai energi bebas $\Delta G = -9.3$ Kkal/mol, bisdemetoksikurkumin $\Delta G = -8.5$ Kkal/mol, demetoksikurkumin $\Delta G = -8.3$ Kkal/mol, santorizol = -7.8 Kkal/mol. Kurkumin memiliki energi bebas Gibbs tertinggi dibandingkan dengan senyawa kurkuminoid yang lainnya. Nilai ini yang pa-



Gambar 2 Validasi metode ; A) interaksi Selekoksisib dengan residu asam amino COX-2 pada hasil validasi (self docking) dan B) interaksi kurkumin dengan residu asam amino COX-2 pada hasil penambatan terarah.(keterangan: Ligan berwarna kuning; hasil redocking, Abu-abu ligand bawaan protein)



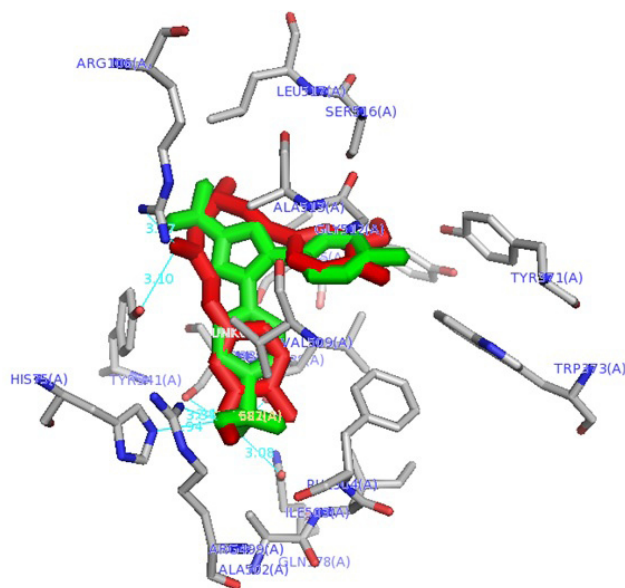
Gambar 3 Energi bebas Gibbs ligan obat (Selekoksib) dan kurkuminoid (kurkumin, demetoksi kurkumin, bisdemetoksi kurkumin) terhadap enzim COX-2

ling mendekati dengan energi bebas Gibbs obat $\Delta G = -12.6$ Kkal/mol

Ikatan Hidrogen, Mode Ikatan dan Karakteristik Senyawa Obat

Pada penambatan terarah kurkumin terdapat 3 ikatan hidrogen pada asam amino Arg¹⁰⁶, Tyr³⁴¹ His⁷⁵ (Gambar 4). Struktur 3 dimensi kur-

kumin dan sisi aktif COX-2 divisualisasikan dengan senyawa kurkuminoid lainnya yaitu bisdemetoksikurkumin terdapat 4 ikatan hidrogen pada asam amino His⁷⁵, Tyr³⁷¹, Arg¹⁰⁶, dan Tyr³⁴¹. Demetoksi kurkumin terdapat 5 ikatan hidrogen pada asam amino His⁷⁵, Tyr³⁷¹, Arg¹⁰⁶, Tyr³⁴¹, dan Met⁵⁰⁸. Santorizol terdapat 1 ikatan hidrogen pada asam amino Ser⁵¹⁶.



Gambar 5 Struktur tiga dimensi interaksi ligan (merah: kurkumin, hijau: Selekoksisb) dengan sisi aktif enzim COX-2

4. PEMBAHASAN

Asam amino penyusun COX-2 terdiri atas 352 asam amino dengan proporsi terbesar pada asam amino leusin sebanyak 55 residu dengan jenis penyusun asam amino terbanyak terdapat pada asam amino nonpolar dengan jumlah 258 asam amino. Keseluruhan asam amino penyusun enzim COX-2 telah diuji kestabilannya menggunakan plot Ramachandran. Berdasarkan data Tabel 2 sebagian besar asam amino penyusun COX-2 berada pada daerah yang stabil (> 90%). Hal ini menunjukkan bahwa data XRD yang digunakan pada penelitian ini adalah data yang akurat yaitu sesuai dengan kondisi asam amino penyusun protein ketika ada di alam. Informasi ini penting untuk menentukan struktur protein hasil XRD yang akan digunakan dalam proses penambatan. Kestabilan struktur 3 Dimensi dari protein ditentukan oleh nilai sudut perputaran (Torsi) polipeptida antara atom N dan C alfa (ϕ) dan sudut perputaran antara atom C alfa dan C penyusun asam amino. Prediksi nilai torsi penting untuk mengetahui pelipatan protein dari susunan asam aminonya. Sudut perputaran suatu asam amino dibatasi oleh nilai sterik hidran antara atom pada rantai utama dan rantai samping polipeptida. Perputaran atom asam amino yang menyebabkan tumbukan antar atom tidak diizinkan dalam plot Ramachandran. Asam amino yang terdapat secara alami akan memiliki nilai torsi yang diizinkan pada plot Ramachandran, pengecualian dari aturan ini adalah asam amino glisin. Hal ini disebabkan karena asam amino glisin tidak memiliki rantai samping sehingga asam amino jenis ini mampu untuk berputar secara bebas.

Senyawa kurkuminoid memiliki kemampuan untuk menembus membran dan mu-

dah diserap oleh tubuh, berdasarkan tabel aturan Lipinski (Tabel 2). Kurkuminoid (kurkumin, demetoksikurkumin, bisdemetoksikurkumin), dan santorizol masing-masing memiliki berat molekul 366, 340, 310, dan 216. Molekul dengan berat kurang dari 500 akan mudah menembus pembatas pembuluh darah otak dan saluran usus. Donor hidrogen masing-masing 1,4, 4,1. Jumlah gugus yang mendonorkan atom hidrogen terhadap ikatan hidrogen kurang dari 5. Donor hidrogen merupakan jumlah gugus hidroksil dan amina dalam suatu senyawa obat. Jumlah donor atom hidrogen yang lebih dari 5 dapat mengganggu daya serap melewati membran *bilayer*. Jumlah akseptor hidrogen masing-masing senyawa yaitu 4,5,4,1. Jumlah akseptor hidrogen kurang dari 5. Jumlah akseptor hidrogen dihitung dari jumlah atom oksigen dan atom nitrogen, terlalu banyak akseptor hidrogen juga mengganggu serapan melewati membran *bilayer*. Kriteria ke 4 aturan Lipinski yaitu jumlah log P (perbandingan kelarutan pada oktanol dan air). Nilai kelarutan masing-masing senyawa yaitu, 4.37, 3.64, 3.63, 4.33. nilai log P yang kurang dari 5 meningkatkan daya serap dari ligan di dalam tubuh (Lipinski 1996).

Uji toksisitas terhadap senyawa kandidat obat kurkuminoid dan santorizol menggunakan metode klasifikasi ADMET dengan beberapa parameter. Parameter pertama adalah inhibisi terhadap hERG (*the human Ether-a-go-go-related*). Kurkuminoid dan santorizol bukan merupakan inhibitor dari hERG (Tabel 1). hERG merupakan gen yang mengkodekan kanal protein kalium yang berkontribusi untuk aktivitas detak jantung. Penghambatan produksi protein ini dapat menyebabkan gangguan yang fatal pada jantung (Hedley *et al.* 2009). Kurkuminoid dan santorizol merupakan senyawa yang

termasuk inhibitor lemah terhadap hERG berdasarkan klasifikasi Robinson (2011). Klasifikasi ini terbagi menjadi 3 bagian yaitu senyawa dengan sifat inhibitor kuat ($IC \leq 1 \mu\text{M}$), inhibitor sedang ($IC=1-10 \mu\text{M}$) dan, inhibitor lemah ($IC \geq 10 \mu\text{M}$).

Senyawa obat juga harus memenuhi standar keamanan yaitu tidak bersifat sebagai mutagen. Berdasarkan analisis diketahui bahwa kurkuminoid dan santorizol memiliki sifat yang tidak mutagen. Uji mutagenitas suatu senyawa dianalisis dengan menggunakan metode Ames berdasarkan basis data dari Xu (2012). Basis data ini terdiri dari 7617 senyawa yang berbeda yang terdiri dari 4252 mutagen dan 3365 senyawa yang tidak mutagen. Sedangkan untuk mengetahui potensi suatu senyawa memiliki sifat karsinogen atau tidak maka dilakukan pengujian menggunakan klasifikasi Lagunin (2009), dengan melihat struktur dasar dari senyawa karsinogen pada hewan pengerat. Data ini juga didukung oleh klasifikasi senyawa potensial karsinogenik menggunakan hewan model tikus. Semua senyawa uji dengan klasifikasi ini merupakan senyawa yang tidak bersifat karsinogenik.

Kurkumin, bisdemetoksikurkumin, dan santorizol masuk dalam kategori III yang artinya senyawa ini memiliki nilai LD 500-5000 mg/kg. Nilai LD50 untuk senyawa demetoksikurkumin masuk pada kategori IV yang berarti lebih tidak toksik. Nilai LD50 adalah nilai standar untuk mengukur toksisitas akut dengan besaran miligram senyawa per kilogram berat tubuh. Nilai LD50 merupakan dosis yang dibutuhkan untuk membunuh 50 persen dari populasi hewan coba (Walum 1998). Semakin kecil dosis LD 50 maka semakin berbahaya senyawa tersebut.

Simulasi penambatan molekuler berhasil dilakukan pada reseptor COX-2 (ID: 3LN1) dengan menggunakan Autodock vina dan PyRx. Simulasi dilakukan dengan menambatkan ligan ke sisi aktif pengikatan protein yang diketahui dengan Discovery Studi 4.0. Daerah pengikatan ligan tersebut adalah (Tyr⁴⁰, Glu⁵², ASN⁵³, His⁷⁵, Arg¹⁰⁶, Glu¹²⁶, Asn¹³⁰, Tyr¹³³, Glu¹⁶⁵, Arg¹⁷⁰, Arg¹⁷¹, Gln¹⁷⁸, Ala¹⁸⁵, Phe¹⁸⁶, Gln¹⁸⁹, His¹⁹³, Phe¹⁹⁶, Lys¹⁹⁷, Thr¹⁹⁸, His²⁰⁰, Arg²⁰², Asp²²⁵, Val²⁸¹, Val³³⁵, Leu³³⁸, Ser³³⁹, Tyr³⁴¹, Leu³⁴⁵, Asn³⁶⁸, Tyr³⁷¹, His³⁷², Trp³⁷³, His³⁷⁴, Gln³⁹², Leu³⁹⁴, Asn³⁹⁶, Ile³⁹⁹, Ile⁴²⁸, Gln⁴³¹, Val⁴³³, Arg⁴⁹⁹, Phe⁵⁰⁴, Val⁵⁰⁹, Gly⁵¹², Ala⁵¹³, Leu⁵¹⁷).

Terdapat dua interaksi yang terjadi antara kurkuminoid dan santorizol dengan enzim COX-2 yaitu interaksi hidrogen dan interaksi hidrofobik. Pada senyawa kurkumin terjadi 3 interaksi hidrogen dan 16 interaksi hidrofobik. Interaksi hidrogen terdapat pada gugus karbonil kurkumin dengan rantai samping Arg¹⁰⁶ (N-H...O) dan Tyr³⁴¹ (O-H...O). Interaksi hidrogen berikutnya yaitu antara atom O pada rantai samping cincin fenil dengan His⁷⁵ (O-H...O). Situs interaksi kurkumin dan selekoksib memiliki kesamaan sebanyak 15 asam amino, kesamaan ini mengindikasikan kemiripan mekanisme aksinya terhadap protein yaitu berkompetisi secara kompetitif dengan selekoksib pada sisi aktif COX-2 (Gambar 4). Senyawa bisdemetoksikurkumin terdapat 4 ikatan hidrogen pada asam amino His⁷⁵, Tyr³⁷¹, Arg¹⁰⁶, dan Tyr³⁴¹. Demetoksi kurkumin terdapat 5 ikatan hidrogen pada asam amino His⁷⁵, Tyr³⁷¹, Arg¹⁰⁶, Tyr³⁴¹, dan Met⁵⁰⁸. Santorizol terdapat 1 ikatan hidrogen pada asam amino Ser⁵¹⁶. Interaksi hidrogen adalah interaksi yang terjadi antara atom hidrogen yang berikatan secara kovalen dengan atom elektronegatif

donor dengan atom elektronegatif lainnya yang bersifat sebagai reseptor. Ikatan hidrogen antara asam amino dan ligan menunjukkan interaksi molekular yang spesifik (Hubbard 2010).

Senyawa kurkuminoid (kurkumin, demetoksikurkumin, bisdemetoksikurkumin) dan santorizol secara berurutan memiliki 16,14,13, dan 10 interaksi hidrofobik. Interaksi hidrofobik terjadi antara molekul nonpolar pada asam amino penyusun enzim dan atom ligan. Interaksi hidrofobik yang optimal akan meningkatkan kestabilan obat yaitu kekuatan ikatan dan efek obat (Patil *et al.* 2010).

Nilai ΔG yang negatif pada kurkuminoid dan santorizol menunjukkan bahwa reaksi yang terjadi adalah reaksi spontan dengan ΔG yang paling spontan dan paling kuat afinitasnya untuk berikatan adalah kurkumin $\Delta G = -9.3$ Kkal/mol. Disusul dengan demetoksikurkumin $\Delta G = -8.3$ Kkal/mol, dan santorizol $\Delta G = -8.5$ Kkal/mol. Nilai ΔG kurkumin paling mendekati dengan energi bebas Gibbs obat komersial selekoksib $\Delta G = -12.6$ Kkal/mol. Simulasi ini menunjukkan interaksi senyawa kurkuminoid dan santorizol dengan energi yang mendekati senyawa obat yaitu selekoksib. Selekoksib merupakan inhibitor kompetitif enzim COX-2 (Drugbank 2015). Mekanisme inhibisi obat oleh inhibitor COX-2 terbagi menjadi 3 tahapan, pertama adalah interaksi antara inhibitor dengan saluran hidrofobik. Selanjutnya senyawa inhibitor akan masuk ke dalam sisi aktif enzim COX-2, tahapan terakhir adalah tahap pencapaian ikatan yang stabil dari gugus. Inhibisi selekoksib spesifik terhadap enzim COX-2 karena gugus sulfonamida pada kantong hidrofilik yang lekat pada sisi aktif COX-2 (DiPiro *et al.* 2008).

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada ketua Departemen Biokimia, Departemen Fisika, seluruh staf pengajar, Staf Laboratorium Departemen Biokimia MIPA IPB dan komunitas online *Research gate* yang telah membantu menyelesaikan penelitian ini.

6. DAFTAR PUSTAKA

- Aggarwal BB and Harikumar KB. 2009. Potential Therapeutic Effects of Curcumin, the Anti-inflammatory Agent, Against Neurodegenerative, Cardiovascular, Pulmonary, Metabolic, Autoimmune and Neoplastic Diseases. *Int J Biochem Cell Biol.* 41(1): 40–59. DOI: 10.1016/j.biocel.2008.06.010
- Bhala N, Emberson J, Merhi A, Abramson S, Arber N, Baron JA, Bombardier C, Cannon C, Farkouh ME, FitzGerald GA *et al.* 2013. "Vascular and upper gastrointestinal effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs: meta-analyses of individual participant data from randomised trials". *Lancet* 382 (9894): 769–79. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60900-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60900-9)
- Cheah YH, Nordin FJ, Tee TT, Azimahtol HL, Abdullah NR, Ismail Z. 2008. Antiproliferative property and apoptotic effect of Xanthorizol on MDA-MB-231 breast cancer cells. *Anticancer Res.* 28(6A):3677-89.
- Darma AP. 1980. Tanaman Obat Tradisional Indonesia. Jakarta: Balai Pustaka.
- Dinas Kesehatan Nasional. 2007. Data penderita kanker payudara di Indonesia. Diakses pada tanggal 9 Mei 2014 dari [<http://www.depkes.go.id/index.php/berita/press-release/1060-jikatidak-dikendalikan-26-juta-orang-di-dunia-menderita-kanker-.html>]. (9 Mei 2014).
- DiPiro, Joseph T, Robert L. Talbert, Gary C Y, Gary R. Matzke, Barbara G. Wells, and L. Posey M. 2008. Pharmacotherapy apathophysiology approach (Pharmacotherapy (DiPiro)). New York: McGraw-Hill Medical

- Xu D and Yang Zhang. Improving the physical realism and structural accuracy of protein models by a two-step atomic-level energy minimization. *Biophysical Journal*. vol 101, 2525-2534 (2011).DOI: 10.1016/j.bpj.2011.10.02
- Faisel CT. 2012. Gambaran efek samping kemoterapi berbasis antrasiklin pada pasien kanker payudara di RSUD dokter Soedarso pontianak. Fakultas kedokteran Universitas Tanjung pura Pontianak.
- Golovin A, Dimitropoulos D, Oldfield T, Rachedi A, Henrick K.2005. MSDsite: a database search and retrieval system for the analysis and viewing of bound ligands and active sites. *Proteins* 58(1);190-9.
- Gupta SC, Prasad S, Kim JH, Patchva S, Webb LJ, Priyadarsini IK, Aggarwal BB. 2011. Multitargeting by curcumin as revealed by molecular interaction studie. *Nat Prod Rep*. Nov; 28(12): 1937–1955.
- Hubbard RE, Haider MK. 2010. Hydrogen Bonds in Proteins: Role and Strength University ofUK , University of York, York, UK. DOI:10.1002/9780470015902.a0003011.pub2
- Kim AJ, Kim YO, Shim JS, Hwang JK. 2007. Immunostimulating activity of crude polysaccharide extract isolated from *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. *Biosci Biotechnol Biochem*. Jun;71(6):1428-38.
- Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. 1996. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv. Drug Deliv. Rev.*23,3–25.
- Lovell SC, Davis IW, Arendall WB, Bakker PIW, Word JM, Prisant MG, Richardson JS, Richardson DC.2002. Structure validation by Calpha geometry: phi,psi and Cbeta deviation. *Proteins: Structure, Function & Genetics*. 50: 437-450.
- Morris GM, Lim WM. 2008. Molecular docking. Department of Molecular Biology. Methods Mol Biol. The Scripps Research Institute La Jolla CA USA. 443:365-82. DOI: 10.1007/978-1-59745-177-2_19
- Patil R, Das S, Stanley A, Yadav L, Sudhakar A, Varma AK. 2010. Optimized Hydrophobic Interactions and Hydrogen Bonding at the Target-Ligand Interface Leads the Pathways of Drug-Designing. *PLoS ONE* 5(8): e12029. doi: 10.1371/journal.pone.0012029.
- Rita DB, Jürgen V, Koen KV, Patrick L, Bart DV, Catharina VE, Marinus J B, Kristien K, Torik A, Hubert JMS *et al*. 2013. A randomised controlled phase II trial of pre-operative Selekoksisib treatment reveals anti-tumour transcriptional response in primary breast cancer .*Breast Cancer Research*. DOI:10.1186/bcr3409
- Russom C.L., C.R. Williams, T.W. Stewart, A.E. Swank, and A.M. Richard.2008 DSS-Tox EPA Fathead Minnow Acute Toxicity Database (EPAFHM): SDF Files and Documentation, *Updated version: PAFHM_v4b_617_15Feb2008*,www.epa.gov/ncct/dsstox/sdf_epafhm.html.
- Soslow RA, Dannenberg AJ, Rush D, Woerner BM, Khan KN, Masferrer J, Koki AT. 2000. COX-2 is expressed in human pulmonary, colonic, and mammary tumors. *Cancer*:89:2637-2645.DOI: 10.1002/1097-0142(20001215)89:12<2637::AID-CNCR17>3.0.CO;2-B.
- Wang, Longchuan Bai, Jianfeng Lu, Liu Liu, and Chao-Yie Yang. 2012. Targeting inhibitors of apoptosis proteins (iaps) for new breast. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*. 17(3-4): 217–228.doi: 10.1007/s10911-012-9265-1.
- WHO. 2013. Breast cancer: Prevention and control. [Internet]. [diunduh 9 Mei 2014]. tersedia pada:<http://www.who.int/cancer/detection/breastcancer/en/index1.html>.