



Artikel Penelitian

Studi *In Silico* Potensi Antikanker Senyawa Kaempferida

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

¹Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Analitika Data, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya, Jawa Timur, Indonesia, 60111

²Departemen Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto, Jawa Tengah, Indonesia, 53123

INFO ARTIKEL

Sejarah Artikel

Diterima 9 September 2021

Direvisi 18 Desember 2021

Tersedia online 21 April 2022

* Penulis korespondensi:
afadlan@chem.its.ac.id

ABSTRAK

Active compounds as therapeutic agents are mainly found in natural products. *Kaempferia pandurata* from *Kaempferia* Genus has been used for the treatment of diseases. *K. pandurata* contains kaempferol (KMP) which exhibits various biological activities such as anticancer. KMP correlates to *death-associated protein kinase 1* (DAPK1) relates to tumor suppression and apoptotic and autophagy mediation. This research aims to evaluate the anticancer potential of kaempferide (a methylated KMP at the C4' position) against DAPK1 *in silico*. The research was performed through molecular docking to DAPK1 (5AUX and 5AV3), anticancer activity prediction, drug-likeness analysis, and ADMET (absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicology) evaluation. The binding affinity of kaempferide was -8.0 kcal/mol for 5AUX and 5AV3, respectively. The highest anticancer activity of kaempferide was shown against the prostate carcinoma cell line CWR22R. Kaempferide showed no violation to Lipinski-Veber rule and had good ADMET profile.

Keywords: *in silico*, anticancer, kaempferide

Senyawa aktif dengan potensi terapeutik banyak ditemukan dalam bahan alam. *Kaempferia pandurata* dari genus *Kaempferia* telah digunakan dalam pengobatan berbagai penyakit. *K. pandurata* mengandung kaempferol (KMP) dengan aktivitas biologis beragam, salah satunya adalah antikanker. KMP juga dapat berikatan dengan *death-associated protein kinase 1* (DAPK1) yang berhubungan dengan penekanan tumor dan mediasi apoptosis dan autofagi. Penelitian ini mempelajari potensi antikanker kaempferida (KMP yang termetilasi pada posisi C4') terhadap DAPK1 secara *in silico*. Penelitian dilakukan melalui penambatan molekular terhadap DAPK1 (5AUX dan 5AV3), perkiraan aktivitas antikanker, analisis *drug-likeness*, dan prediksi ADMET (*absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicology*). Afinitas ikatan kaempferida masing-masing sebesar -8,0 kkal/mol untuk 5AUX dan 5AV3. Aktivitas antikanker tertinggi kaempferida ditunjukkan terhadap *cell line* karsinoma prostat CWR22R. Kaempferida tidak melanggar aturan Lipinski-Veber sesuai analisis *drug-likeness* dan memiliki profil ADMET yang cukup baik.

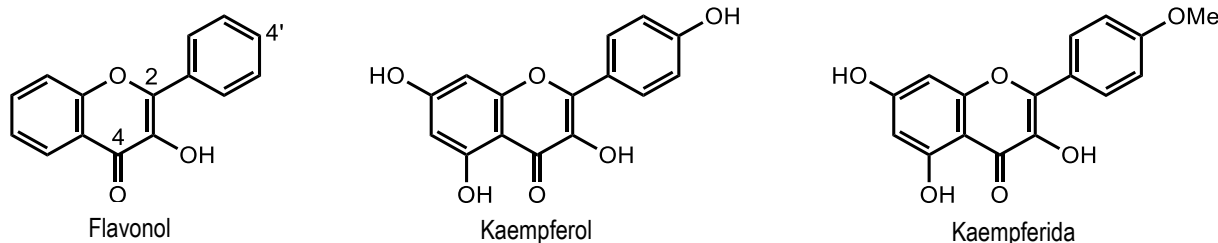
Kata kunci: *in silico*, antikanker, kaempferida

1. Pendahuluan

Bahan alam telah terbukti menjadi sumber berbagai senyawa aktif dengan potensi terapeutik. Tanaman juga telah digunakan dalam pengobatan herbal secara tradisional maupun komplementer [1]. Senyawa aktif yang berasal dari tanaman diketahui dapat digunakan secara tunggal maupun dalam kombinasi dengan obat komersial [2]. Genus *Kaempferia* merupakan anggota keluarga Zingiberaceae dalam bangsa Zingiberales yang banyak digunakan sebagai bahan pangan dan obat. Genus *Kaempferia* diperkirakan terdiri dari 50-60 spesies yang tersebar di Asia Timur hingga Cina, India, Bangladesh dan Asia Tenggara seperti Thailand, Myanmar, Malaysia, Indonesia, Filipina, Laos, Kamboja, dan Vietnam [3]. *Kaempferia parviflora*, *K. pulchra*, dan *K. galanga* telah banyak dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional seperti peradangan, hipertensi, disfungsi ereksi, masalah pencernaan dan metabolisme, vitalitas dan aliran darah, diuretik, deodoran, infeksi saluran kemih, demam, pilek, asma, luka, reumatik, dan penyakit kulit [4].

K. pandurata atau *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. atau *Curcuma rotunda* L. atau *B. pandurata* (Roxb.) Schlechter adalah tanaman asli Indonesia yang banyak ditemukan di Pulau Sumatera dan Jawa. Rimpang *K. pandurata* banyak digunakan sebagai bahan tambahan makanan dan untuk pengobatan sakit perut, batuk kering, reumatik, dan nyeri otot [5]. *K. pandurata* mengandung flavonoid, minyak atsiri, dan senyawa polifenol berupa kaempferol (KMP) yang strukturnya ditunjukkan pada **Gambar 1** [6]. KMP adalah flavonoid berkerangka flavonol dengan aktivitas antioksidan, antiradang, antidiabetes, antibakteri, dan antikanker [7, 8]. KMP dilaporkan berikatan dengan *death-associated protein kinase 1* (DAPK1) melalui gugus hidroksi posisi C4' dengan mode B [9]. DAPK1 adalah kinase serin/treonin subfamili Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase (CaMK) yang dapat menekan tumor dan memediasi apoptosis dan autofagi. DAPK1 berhubungan erat dengan berbagai penyakit kanker dan neurodegeneratif [10]. Kaempferida (3,5,7-trihidroksi-4'-metoksiflavon) adalah KMP yang termetilasi pada posisi C4' dengan spektrum bioaktivitas yang luas [11]. Kaempferida mampu menurunkan aktivitas promotor Claudin 2 (CLDN2) dan menghambat transkripsi CLDN2 dalam sel A549 yang lebih baik dari antioksidan *N*-asetil-L-sistein [12]. Kaempferida juga dilaporkan mampu menghentikan pembelahan sel kanker melalui penghambatan fase G_0/G_1 sel kanker usus besar manusia HCT8 [13].

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini bertujuan untuk melakukan studi potensi aktivitas antikanker kaempferida terhadap DAPK1 secara *in silico*. Penelitian dilakukan melalui penambatan molekular yang dilanjutkan dengan perkiraan aktivitas antikanker, analisis *drug-likeness*, dan prediksi ADMET (*absorption, distribution, metabolism, excretion and toxicology*).



Gambar 1. Struktur flavonol, kaempferol (KMP), dan kaempferida

2. Bahan dan Metode

2.1. Bahan

Bahan yang digunakan adalah protein reseptor *death-associated protein kinase 1* (DAPK1) dengan kode 5AUX dan 5AV3 yang mengandung ligan alami kaempferol (KMP). Protein ini diunduh dari situs Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/>).

2.2. Penambatan Molekuler

Penambatan molekular dilakukan pada senyawa kaempferida terhadap protein reseptor DAPK1 dengan kode 5AUX dan 5AV3 dengan ligan alami KMP [9]. Penelitian dilakukan dengan Hewlett Packard sistem operasi Windows 10 64-bit prosesor Intel® Core™ i5-8265U CPU @ 1.60 GHz RAM 8 GB Radeon 530 Series. Struktur kaempferida dan atom hidrogen yang terikat dalam bentuk dua dimensi (2D) digambar dengan MarvinSketch dan dikonversi menjadi bentuk tiga dimensi (3D). Minimisasi energi dilakukan dengan MMFF94 dan dilanjutkan protonasi pada pH 7,40.

Struktur kaempferida dalam bentuk 3D disimpan dalam format .sdf. Ligan alami KMP dalam bentuk 3D dikeluarkan dari makromolekul 5AUX dan 5AV3 dengan PyMOL. Konversi file format .sdf menjadi .pdbqt dilakukan dengan PyRx-0.8 (Autodock Vina). Makromolekul 5AUX dan 5AV3 dengan masing-masing resolusi sebesar 1,5 dan 1,9 Å disiapkan dengan PyMOL. Molekul air dan ligan alami KMP dalam makromolekul dihapus dan atom hidrogen polar ditambahkan pada

strukturnya. Hasil preparasi makromolekul dalam format .pdb dikonversi menjadi format .pdbqt dengan Autodock Vina dalam PyRx [14, 15]. Validasi proses penambatan dilakukan melalui penambatan ulang (*redocking*) ligan alami KMP yang dilanjutkan dengan penambatan silang kaempferida terhadap 5AUX dan 5AV3. Penambatan dilakukan pada koordinat sumbu X = -22,748 Å, Y = 2,4218 Å, Z = -11,7748 Å dengan ukuran *grid* X = 10,0558 Å, Y = 10,7264 Å, Z = 9,5328 Å untuk 5AUX, dan pada sumbu X = -22,7927 Å, Y = 2,4578 Å, Z = -12,1170 Å dan *grid* X = 9,4990 Å, Y = 10,7387 Å, Z = 7,1328 Å untuk 5AV3. Hasil penambatan divisualisasi dengan perangkat lunak PyMOL dan BIOVIA Discovery Studio dan LigPlot+.

2.3. Prediksi Aktivitas Antikanker

Profil antikanker kaempferida diperkirakan melalui program CLC-Pred (*Cell Line Cytotoxicity Predictor*) yang bekerja berdasarkan algoritma *prediction of activity spectra for substances* (PASS). Struktur kaempferida dapat dimasukkan dalam format *simplified molecular-input line-entry system* (SMILES), MOL atau melalui gambar struktur dengan Marvin JS applet. Hasil prediksi berupa urutan *cell lines* tumor dan sel normal yang berpotensi dihambat oleh kaempferida dengan dua kemungkinan, Pa (aktif) dan Pi (tidak aktif) [16].

2.4. Analisis Drug-Likeness

Analisis *drug-likeness* dilakukan dengan SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>) terhadap struktur kaempferida [17]. Analisis memberikan data berupa berat molekul, akseptor ikatan hidrogen, donor ikatan hidrogen, koefisien partisi oktanol/air (MLogP dan WLOGP), *rotatable bonds*, *topological polar surface area* (TPSA), *blood brain barrier* (BBB), dan pelanggaran terhadap aturan Lipinski dan Veber.

2.5. Prediksi ADMET

Senyawa kaempferida dipelajari lebih lanjut untuk mengetahui profil penyerapan, distribusi, metabolisme, ekskresi, toksisitas (ADMET) dengan perangkat *online* ADMETlab [18]. Analisis yang dilakukan dengan unggah struktur dalam format SMILES menghasilkan data deskriptor penyerapan (permeabilitas sel Caco-2, penyerapan intestinal manusia, kelarutan dalam air, substrat (Pgp) dan inhibitor P-glikoprotein (Pgp), *blood-brain barrier* (BBB), distribusi ekskresi (lokalisasi subselular, inhibitor OCT1 dan OCT2 dan MATE1), metabolisme (inhibitor dan substrat isoform sitokrom P450), dan toksisitas (karsinogenik, uji hepatoksitas, toksisitas AMES toksisitas akut oral).

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Penambatan Molekuler

Penambatan molekuler diawali dengan penyiapan senyawa kaempferida dan ligan alami KMP menggunakan MarvinSketch. Minimisasi energi dilakukan terhadap struktur 3D yang diperoleh dari konversi struktur 2D dengan medan gaya MMFF94 untuk stabilisasi penyusunan ikatan selama proses penambatan [19, 20]. Atom dan molekul senyawa kaempferida dan ligan alami KMP bergerak dalam waktu yang dinamik selama proses penambatan dalam kecepatan yang sesuai dan akurasi ketepatan [21]. Protonasi disesuaikan dengan keadaan sitoplasma sel (pH 7,4) [22]. Ligan alami KMP disiapkan melalui penghapusan residu 5AUX atau 5AV3 dengan PyMOL dan hanya menyisakan ligan alami KMP. Preparasi ligan alami KMP dilanjutkan sebagaimana kaempferida. Senyawa kaempferida dan ligan alami KMP hasil penyiapan disimpan dalam format .sdf yang kemudian dikonversi menjadi format .pdbqt.

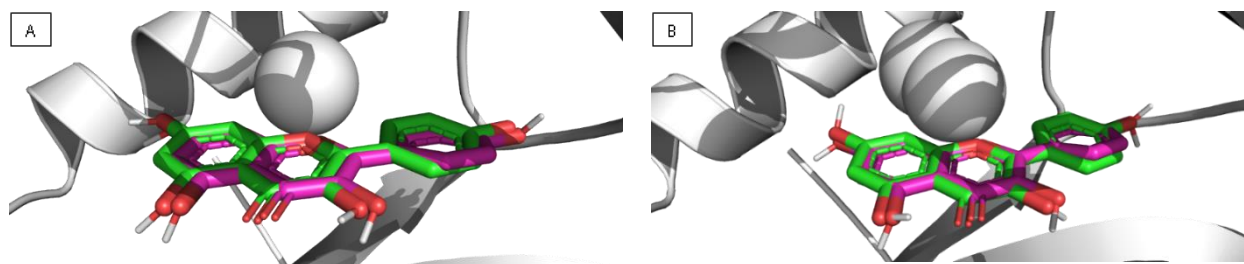
Protein DAPK1 kode 5AUX dan 5AV3 yang mengandung ligan alami KMP digunakan dalam penelitian ini. Makromolekul 5AUX dan 5AV3 disiapkan dengan penghapusan molekul air yang dapat menghubungkan senyawa dan reseptor selama proses penambatan [23]. Area penambatan didapatkan melalui penghapusan ligan alami KMP dan menghasilkan situs ikatan pada koordinat X = -22,748 Å, Y = 2,4218 Å, Z = -11,7748 Å untuk 5AUX dan pada koordinat X = -22,7927 Å, Y = 2,4578 Å, Z = -12,1170 Å untuk 5AV3. Makromolekul 5AUX dan 5AV3 disimpan dalam format .pdb dan diubah menjadi format .pdbqt yang siap digunakan untuk penambatan senyawa kaempferida dan ligan alami KMP.

Penambatan senyawa kaempferida dan ligan alami KMP dilakukan secara fleksibel (*flexible ligand docking*) untuk mendapatkan konformasi dan arah sesuai situs ikat reseptor [24]. Penambatan dilakukan secara selektif (*selective docking*) pada situs ikat ligan alami KMP dalam makromolekul 5AUX dan 5AV3. Proses penambatan dimulai dengan penambatan ulang (*redocking*) ligan alami KMP yang diikuti dengan penambatan silang (*cross docking*) senyawa kaempferida. *Redocking* menambatkan ulang ligan alami KMP pada 5AUX atau 5AV3 dan *cross docking* menambatkan kaempferida pada situs ikat ligan alami KMP [25, 26]. Proses penambatan dievaluasi berdasarkan nilai afinitas ikatan (*binding affinity*) yang semakin baik (semakin kuat ikatan senyawa-reseptor) apabila nilainya semakin negatif [15, 27]. Penambatan juga menghasilkan data *pose* ikatan dan *root-mean-square deviation* (RMSD).

Prosedur penambatan dievaluasi berdasarkan nilai RMSD dan visualisasi interaksi hasil *redocking*. Tahap ini dilakukan dengan pengambilan ligan alami KMP dari makromolekul 5AUX dan 5AV3 dan meletakkannya kembali dalam

situs aktif 5AUX dan 5AV3. *Redocking* ligan alami KMP menghasilkan pose dan konformasi terbaik yang kemudian disejajarkan dengan konformasi ligan ko-kristal KMP dalam 5AUX dan 5AV3. Hasil penyejajaran berupa nilai RMSD yang menggambarkan besarnya penyimpangan posisi ikatan KMP hasil *redocking* terhadap posisi ikatan KMP ko-kristal [28]. Penyejajaran memberikan nilai RMSD masing-masing sebesar 1,476 dan 1,731 Å untuk makromolekul 5AUX dan 5AV3 (**Gambar 2**) yang mengindikasikan prosedur penambatan dapat diterima ($RMSD < 2,0 \text{ \AA}$) [29].

Visualisasi memperlihatkan bahwa KMP hasil *redocking* berinteraksi dengan residu Val96, Glu94, Leu95, Ala40, Val27, Gly20, Ser21, Gly22, Asp161, Lys42, Leu19, Ile160 dalam 5AUX dan residu Val96, Glu94, Leu95, Leu19, Met146, Gly20, Gly22, Ser21, Lys42, Asp161, Ile160, Val27, Ala40 dalam 5AV3. Interaksi yang terjadi ini sama dengan interaksi ligan ko-kristal KMP dalam kristal 5AUX (residu Val96, Glu94) dan 5AV3 (Leu19, Ser21, Asp161). Hasil analisis interaksi ini mendukung data nilai RMSD dan menyatakan proses penambatan telah valid dan dapat digunakan pada penambatan silang.



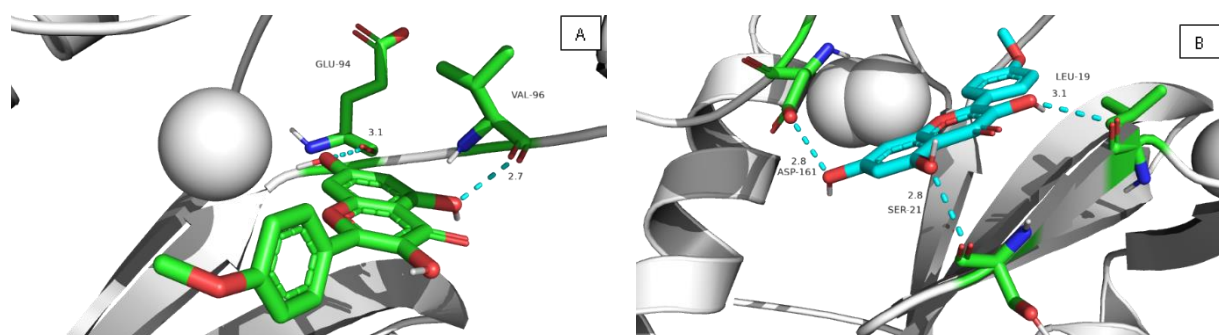
Gambar 2. Visualisasi 3D hasil penyejajaran KMP pada (A) 5AUX dan (B) 5AV3. KMP *redocking* (hijau), KMP ko-kristal (ungu).

Penambatan silang kaempferida dilakukan sebagaimana *redocking* ligan alami KMP pada pusat koordinat dan ukuran yang sama. Penambatan yang dilakukan menghasilkan masing-masing 9 dan 5 pose pada 5AUX dan 5AV3. Pose 1 kaempferida memberikan nilai afinitas ikatan yang sama sebesar -8,0 kkal/mol untuk 5AUX dan 5AV3 (**Tabel 1**). Afinitas ikatan yang bernilai negatif mengindikasikan bahwa kaempferida berpotensi sebagai agen antikanker, meskipun dengan nilai afinitas ikatan yang lebih besar dari ligan alami KMP pada 5AUX dan 5AV3 (-8,8 kkal/mol dan -9,0 kkal/mol). Visualisasi 3D hasil penambatan silang (**Gambar 3**) mengindikasikan adanya interaksi kaempferida dengan residu Val96 dan Glu94 dalam makromolekul 5AUX melalui ikatan hidrogen. Sementara itu, kaempferida juga berinteraksi dengan 5AV3 melalui ikatan hidrogen dengan residu Asp161, Ser21, dan Leu19.

Tabel 1. Afinitas Ikatan Kaempferida dan Interaksi Residu

Makromolekul	Afinitas Ikatan (kkal/mol)	Interaksi Residu
5AUX	-8,0	Leu19, <u>Val96</u> , <u>Glu94</u> , Leu93, Ala40, Ile77, Ile160, Asp161, Gly22, Ser21, Gly20, Met146
5AV3	-8,0	<u>Asp161</u> , Ala40, Ile160, Glu94, Ile77, Val96, Met146, <u>Leu19</u> , Val27, Gly20, <u>Ser21</u> , Gly22

Residu yang digarisbawahi menunjukkan adanya interaksi dengan kaempferida melalui pembentukan ikatan hidrogen.



Gambar 3. Visualisasi 3D interaksi kaempferida dengan (A) 5AUX dan (B) 5AV3 melalui ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen ditunjukkan dengan garis putus berwarna toska.

3.2. Prediksi Aktivitas Antikanker

Dalam penelitian ini, sitotoksitas kaempferida diperkirakan dengan CLC-Pred terhadap sel tumor dan sel normal. CLC-Pred bekerja dengan algoritma yang digunakan dalam PASS berdasarkan data IG_{50} , IC_{50} dan persentase penghambatan sebanyak 59.882 senyawa dari ChEMBL. CLC-Ped memiliki rata-rata akurasi prediksi *leave-one-out* dan 20 kali *cross validation* sebesar 0,930 dan 0,927 terhadap 278 sel kanker, dan sebesar 0,948 dan 0,947 terhadap 27 sel normal. Struktur kaempferida yang dimasukkan dalam format SMILES memberikan hasil sebagaimana dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Hasil Prediksi *Cell Line* Kanker untuk Kaempferida ($Pa > 0,3$)

Pa	Pi	Cell Line	Nama Lengkap Cell Line	Jaringan	Tipe tumor
0,395	0,005	CWR22R	<i>Prostate carcinoma epithelial cell line</i>	Prostat	Karsinoma
0,418	0,055	NCI-H187	<i>Small cell lung carcinoma</i>	Paru-paru	Karsinoma
0,383	0,035	HOP-18	<i>Non-small cell lung carcinoma</i>	Paru-paru	Karsinoma
0,364	0,057	HL-60	<i>Promeyloblast leukemia</i>	<i>Haematopoietic dan lymfoid</i>	Leukemia
0,310	0,003	COLO 320	<i>Colon adenocarcinoma</i>	Kolon	Adenokarsinoma
0,406	0,113	Hs 683	<i>Oligodendrocarcinoma</i>	Otak	Glioma
0,368	0,152	SK-MEL-1	<i>Metastatic melanoma</i>	Kulit	Melanoma
0,301	0,138	MCF7	<i>Breast carcinoma</i>	Payudara	Karsinoma
0,330	0,197	NALM-6	<i>Adult B acute lymphoblastic leukemia</i>	<i>Haematopoietic dan lymfoid</i>	Leukemia

Hasil prediksi aktivitas antikanker kaempferida terhadap berbagai *cell line* kanker dengan $Pa > 0,3$ dapat dilihat pada **Tabel 2**. Hasil prediksi menyebutkan bahwa karsinoma prostat adalah *cell line* dengan probabilitas tertinggi yang dapat dihambat oleh kaempferida. Hasil ini diikuti oleh karsinoma paru-paru dan beberapa *cell line* leukemia, adenokarsinoma, glioma, dan melanoma. Kaempferida tidak menunjukkan hasil prediksi pada *cell line* non tumor dengan $Pa > 0,3$. Prediksi aktivitas berdasarkan algoritma PASS memberikan sederet hasil dengan dua kemungkinan sesuai Pa (aktif) dan Pi (inaktif) dengan urutan menurun sesuai nilai $Pa-Pi$. Aktivitas yang paling besar berada pada urutan pertama. *Cut-off* parameter Pa menjadi acuan dalam penentuan aktivitas secara eksperimen dan sangat bergantung pada parameter pasangan berupa Pi . Nilai Pa dan Pi bervariasi dari 0,000 hingga 1,000 yang mengindikasikan kemungkinan senyawa uji menjadi aktif atau tidak aktif [16, 30]. *Cell line* CWR22 adalah jaringan dari kanker prostat manusia yang bersifat *androgen-dependent* dan dapat ditransplantasi. *Cell line* ini banyak digunakan dalam pengujian laboratorium karena dapat berkembang setelah beberapa bulan hingga lebih dari satu tahun setelah aplikasi pada *host* [31].

3.3. Analisis Drug-Likeness

Analisis *drug-likeness* dan prediksi ADMET dapat digunakan sebagai pedoman dalam pengembangan target baru dengan aktivitas biologis yang menjanjikan. **Tabel 3** memperlihatkan bahwa kaempferida tidak melanggar aturan Lipinski-Weber dan dapat menjadi kandidat obat oral. Lipinski dan Weber memberikan persyaratan untuk kandidat obat berupa berat molekul < 500 Da, donor ikatan hidrogen < 5 , akseptor ikatan hidrogen < 10 , nilai koefisien partisi oktanol/air ($MLogP$) < 5 , *rotatable bonds* < 10 , dan $TPSA < 140 \text{ \AA}^2$. Aturan Lipinski-Weber merupakan panduan umum dalam pengembangan agen dan kandidat obat baru. Lipinski menghubungkan parameter farmakokinetika dan sifat fisikokimia, sedangkan Weber dkk. mendalami lebih lanjut beberapa sifat dalam aturan Lipinski [32, 33]. Penyerapan dan permeabilitas yang baik tercapai apabila suatu kandidat memenuhi seluruh parameter dan hanya melanggar maksimal satu kriteria.

Tabel 3. Hasil Analisis *Drug-Likeness* Kaempferida

BM	HBA	HBD	MLogP	DLL	RB	TPSA	DLV	WLOGP	BBB
300,26	6	3	0,22	Ya	2	100,13	Ya	2,59	Tidak

BM = berat molekul, HBA = akseptor ikatan hidrogen, HBD = donor ikatan hidrogen, $MLogP$ = koefisien partisi oktanol/air, DLL = *drug likeness* Lipinski, RB = *rotatable bonds*, $TPSA$ = *topological polar surface area*, DLV = *drug likeness* Weber, WLOGP = lipofilisitas, BBB = *blood brain barrier*

Nilai logaritma koefisien partisi antara oktanol/air ($LogP$) berhubungan erat dengan hidrofilitas. Nilai $LogP$ yang tinggi mengindikasikan hidrofilitas yang rendah dan mengakibatkan penyerapan dan permeasi yang buruk. Kaempferida memiliki nilai $MLogP$ cukup rendah (0,22) yang berarti kaempferida dapat terserap dengan baik (**Tabel 3**). Hal ini didukung oleh berat molekul kaempferida yang rendah yang dapat meningkatkan laju penyerapan [34]. Selanjutnya, kaempferida memiliki nilai $TPSA$ moderat ($< 140 \text{ \AA}^2$) dan relatif lipofilik ($WLOGP = 0,4-6,0$) sehingga permeabilitas membran kaempferida cukup baik [35]. Penetrasi sistem saraf pusat juga diwakili oleh nilai $TPSA$ yang rendah [36, 37].

3.4. Prediksi ADMET

Prediksi ADMET dengan perangkat *online* ADMETSAR meliputi penyerapan, pengangkutan, metabolisme setelah distribusi, ekskresi sisa metabolisme, dan bahaya atau racun yang dapat terjadi. Hasil prediksi ADMET senyawa kaempferida dapat dilihat pada **Tabel 4**. Kaempferida menunjukkan kriteria positif untuk penyerapan intestinal manusia (HIA) yang berarti dapat diserap dalam saluran intestinal (>30%). Kaempferida tidak dapat mencapai sistem saraf pusat sebagaimana parameter BBB (**Tabel 3**) dan tidak dapat melewati sawar darah otak (*blood-brain barrier*) meskipun memiliki TPSA yang moderat dan lipofilik. Kaempferida memiliki kelarutan yang baik dengan LogS 90,055. Senyawa ini tidak berfungsi sebagai substrat maupun inhibitor P-glikoprotein yang ditandai dengan nilai negatif untuk kedua kriteria [38].

Tabel 4. Hasil Prediksi ADMET Kaempferida

Parameter	Hasil	Probability
LogS	LogS+	90,055
Papp (Caco-2 permeability)	Caco2+ (> -5,15)	-5,161
Inhibitor Pgp	Non-inhibitor	0,597
Substrat Pgp	Non-substrat	0,008
HIA	HIA+	0,498
Plasma protein binding	PPB+	88,34
Blood-brain barrier	BBB-	0,323
Inhibitor CYP1A2	Inhibitor	0,975
Substrat CYP1A2	Non-substrat	0,516
Inhibitor CYP3A4	Inhibitor	0,658
Substrat CYP3A4	Non-substrat	0,340
Inhibitor CYP2C9	Non-inhibitor	0,363
Substrat CYP2C9	Substrat	0,937
Inhibitor CYP2C19	Non-inhibitor	0,278
Substrat CYP2C19	Non-substrat	0,655
Inhibitor CYP2D6	Inhibitor	0,611
Substrat CYP2D6	Non-substrat	0,602
T _{1/2} (Half life time)	T _{1/2} +	1,046
Clearance rate (CL)	CL-	1,962
Human hepatotoxicity	HHT+	0,730
AMES mutagenicity	Non AMES	0,044
LD ₅₀ acute toxicity	LD ₅₀ low	551,45

Prediksi metabolisme melalui sitokrom P450 (CYP) memberikan informasi interaksi obat [39]. Sitokrom CYP yang terdiri dari CYP1A2, CYP3A4, CYP2C9, CYP2C19, dan CYP2D6 adalah kelompok enzim yang berperan dalam detoksifikasi. Parameter CYP menunjukkan bahwa kaempferida secara umum tidak berpengaruh buruk dalam metabolisme. Selain itu, kaempferida merupakan inhibitor untuk beberapa isoform sitokrom P450 (CYP) [40] dan memiliki waktu paruh yang cukup baik meskipun dengan *clearance rate* yang rendah [41]. Kaempferida bersifat toksik terhadap hepar dan namun tidak mutagenik AMES [42, 43]. Aktivitas toksisitas akut kaempferida sebesar 551,45 mg/Kg yang termasuk dalam kategori rendah [44].

4. Kesimpulan

Studi *in silico* terhadap kaempferida telah dilakukan melalui penambatan molekular pada protein DAPK1 (5AUX dan 5AV3) yang dilanjutkan dengan prediksi aktivitas antikanker, analisis *drug-likeness* dan prediksi ADMET. Validasi proses penambatan melalui *redocking* ligan alami KMP menghasilkan nilai RMSD sebesar 1,476 dan 1,731Å untuk 5AUX dan 5AV3, berturut-turut. Visualisasi interaksi hasil *redocking* menunjukkan interaksi yang sama dengan ligan ko-kristal KMP dalam kristal 5AUX dan 5AV3. Afinitas ikatan kaempferida sebesar -8,0 kkal/mol untuk kedua 5AUX dan 5AV3 mengindikasikan potensinya sebagai agen antikanker. Kaempferida menunjukkan aktivitas antikanker tertinggi terhadap *cell line* karsinoma prostat CWR22R pada Pa>0,3. Kaempferida tidak melanggar aturan Lipinski-Veber dan dapat menjadi kandidat obat oral sesuai analisis *drug-likeness*. Profil ADMET kaempferida cukup baik berdasarkan hasil prediksi ADMET yang telah dilakukan.

Daftar Pustaka

- [1] F. Les, G. Cásedas, & V. López, "Bioactivity of Medicinal Plants and Extracts," *Biology*, vol. 10, no. 634, 2021.
- [2] Y. Yun, M. Shioura, Y. Hitotsuyanagi, S. Yotsumoto, Y. Takahashi, Y. Aoyagi, T. Kinoshita, K. Takeya, & H. Inoue, "Garcinielliptone G from *Garcinia subelliptica* Induces Apoptosis in Acute Leukemia Cells," *Molecules*, vol. 26, no. 2422, 2021.
- [3] N. K. Pham, H. T. Nguyen, & Q. B. Nguyen, "A Review on The Ethnomedicinal Uses, Phytochemistry and Pharmacology of Plant Species Belonging to *Kaempferia* L. Genus (*Zingiberaceae*)," *Pharmaceutical Sciences Asia*, vol. 48, no. 1, pp. 1-24, 2021.
- [4] A. I. Elshamy, T. A. Mohamed, A. F. Essa, A. M. A. Gawad, A. S. Alqahtani, A. A. Shahat, T. Yoneyama, A. R. H. Farrag, M. Noji, H. R. El-Seedi, A. Umeyama, P. W. Paré, & M. E. F. Hegazy, "Recent Advances in *Kaempferia* Phytochemistry and Biological Activity: A Comprehensive Review," *Nutrients*, vol. 11, no. 2396, 2019.
- [5] M. Silalahi, "*Boesenbergia rotunda* (L.). Mansfeld: Manfaat dan Metabolit Sekundernya," *Jurnal EduMatSains*, vol. 1, no. 2, pp. 107-118, 2017.
- [6] A. M. Rosdianto, I. M. Puspitasari, R. Lesmana, & J. Levita, "Bioactive Compounds of *Boesenbergia* sp. and Their Anti-inflammatory Mechanism: A Review," *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, Vol. 10, no. 07, pp. 116-126, 2020.
- [7] N. Sharma, S. Biswas, N. Al-Dayyan, A. S. Alhegaili, & M. Sarwat, "Antioxidant Role of Kaempferol in Prevention of Hepatocellular Carcinoma," *Antioxidants*, vol. 10, no.1419, 2021.
- [8] T.-Y. Wang, Q. Li, & K.-S. Bi, "Bioactive Flavonoids in Medicinal Plants: Structure, Activity and Biological Fate," *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 13, no. 1, pp. 12–23, 2018.
- [9] T. Yokoyama, Y. Kosaka, & M. Mizuguchi, "Structural Insight into the Interactions between Death-Associated Protein Kinase 1 and Natural Flavonoids," *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 58, no. 18, pp. 7400–7408, 2015.
- [10] L. Zhao, X. Yuan, J. Wang, Y. Feng, F. Ji, Z. Li, & J. Bian, "A Review on Flavones Targeting Serine/Threonine Protein Kinases for Potential Anticancer Drugs," *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, vol. 27, no. 5, pp. 677–685, 2019.
- [11] V.-S. Nguyen, L. Shi, F.-Q. Luan, & Q.-A. Wang, "Synthesis of Kaempferide Mannich Base Derivatives and Their Antiproliferative Activity on Three Human Cancer Cell Lines", *Acta Biochimica Polonica*, vol. 62, no. 3, pp. 547–552, 2015.
- [12] H. Eguchi, T. Matsunaga, S. Endo, K. Ichihara, & A. Ikari, "Kaempferide Enhances Chemosensitivity of Human Lung Adenocarcinoma A549 Cells Mediated by the Decrease in Phosphorylation of Akt and Claudin-2 Expression," *Nutrients*, vol. 12, no. 1190, 2020.
- [13] D. Tasdemir, M. Kaiser, R. Brun, V. Yardley, T. J. Schmidt, F. Tosun, & P. Rüedi, "Antitrypanosomal and Antileishmanial Activities of Flavonoids and Their Analogues: In Vitro, In Vivo, Structure-Activity Relationship, and Quantitative Structure-Activity Relationship Studies," *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 50, no. 4, pp. 1352–1364, 2006.
- [14] O. Trott & A. J. Olson, "AutoDock Vina: Improving the Speed and Accuracy of Docking with a New Scoring Function, Efficient Optimization, and Multithreading," *Journal of Computational Chemistry*, vol. 31, no. 2, 455–461, 2009.
- [15] S. Dallakyan & A. J. Olson, "Small-Molecule Library Screening by Docking with PyRx," in *Chemical Biology: Methods and Protocols* vol. 1263, J. E. Hempel, C. H. Williams, & C. C. Hong, Eds. New York: Springer, 2015, pp. 243–250.
- [16] A. A. Lagunin, V. I. Dubovskaja, A. V. Rudik, P. V. Pogodin, D. S. Druzhilovskiy, T. A. Glorizova, D. A. Filimonov, N. G. Sastry, & V. V. Poroikov, "CLC-Pred: A Freely Available Web-service for *in Silico* Prediction of Human Cell Line Cytotoxicity for Drug-Like Compounds", *PLoS One*, vol. 13, no. 1, pp. e-191838, 2018.
- [17] A. Daina, O. Michielin, & V. Zoete, "SwissADME: A Free Web Tool to Evaluate Pharmacokinetics, Drug-Likeness and Medicinal Chemistry Friendliness of Small Molecules," *Scientific Reports*, vol. 7, no. 42717, 2017.
- [18] J. Dong, N.-N. Wang, Z.-J. Yao, L. Zhang, Y. Cheng, D. Ouyang, A.-P. Lu, & D.-S. Cao, "ADMETlab: A Platform for Systematic ADMET Evaluation Based on a Comprehensively Collected ADMET Database," *Journal of Cheminformatics*, vol. 10, no. 29, 2018.
- [19] M. S. Ganesan, K. K. Raja, S. Murugesan, B. K. Kumar, G. Rajagopal, & S. Thirunavukkarasu, "Synthesis, Biological Evaluation, Molecular Docking, Molecular Dynamics and DFT Studies of Quinoline-Fluoroproline Amide Hybrids," *Journal of Molecular Structure*, vol. 1217, no. 128360, 2020.
- [20] Á., Jász, Á., Rák, I. Ladjánszki, & G. Cserey, "Optimized GPU Implementation of Merck Molecular Force Field and Universal Force Field," *Journal of Molecular Structure*, vol. 1188, pp. 227–233, 2019.
- [21] H. Mirzaei, S. Zarbafian, E. Villar, S. Mottarella, D. Beglov, S. Vajda, I. C. Paschalidis, P. Vakili, & D. Kozakov, "Energy Minimization on Manifolds for Docking Flexible Molecules," *Journal of Chemical Theory and Computation*, vol. 11, no. 3, pp. 1063–1076, 2015.
- [22] J. H. Drie, "Pharmacophore-Based Virtual Screening: A Partial Perspective," in *Virtual Screening in Drug Discovery*, 1st Edition, J. Alvarez & B. Shoichet, Eds. Boca Raton: CRC Press, 2005, pp. 155-204.

- [23] J. C. Cole, J. W. M. Nissink, & R. Taylor, "Protein-Ligand Docking and Virtual Screening with GOLD", in *Virtual Screening in Drug Discovery 1st Edition*, J. Alvarez & B. Shoichet. Boca Raton: CRC Press, 2005, pp. 379–415.
- [24] E. H. B. Maia, L. C. Assis, T. A. de Oliveira, A. M. da Silva, & A. G. Taranto, "Structure-Based Virtual Screening: from Classical to Artificial Intelligence," *Frontiers in Chemistry*, vol. 8, no. 343, 2020.
- [25] P. Jofily, P. G. Pascutti, & P. H. M. Torres, "Improving Blind Docking in DOCK6 through an Automated Preliminary Fragment Probing Strategy," *Molecules*, vol. 26, no. 1224, 2021.
- [26] X.-Y. Meng, H.-X. Zhang, M. Mezei, & M. Cui, "Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery," *Current Computer-Aided Drug Design*, vol. 7, no. 2, pp. 146–157, 2011.
- [27] M. S. Salahudeen & P. S. Nishtala, "An Overview of Pharmacodynamic Modelling, Ligand-Binding Approach and Its Application in Clinical Practice," *Saudi Pharmaceutical Journal*, vol. 25, no. 2, pp. 165–175, 2017.
- [28] T. Nauli, "Penentuan Sisi Aktif Selulase *Aspergillus niger* dengan Docking Ligan," *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*, vol. 16, no. 2, pp. 94-100, 2014.
- [29] W. J. Allen & R. C. Rizzo, "Implementation of The Hungarian Algorithm to Account for Ligand Symmetry and Similarity in Structure-Based Design," *Journal of Chemical Information and Modeling*, vol. 54, no. 2, pp. 518–529, 2014.
- [30] O. Ammar, "In Silico Pharmacodynamics, Toxicity Profile and Biological Activities of the Saharan Medicinal Plants *Limoniastrum freei*," *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 53, no. 3, 2017.
- [31] M. Nagabushan, C. M. Miller, T. P. Pretlow, J. M. Giaconia, N. L. Edgehouse, S. Schwartz, H. J. Kung, R. W. de Vere White, P. H. Gumerlock, M. I. Resnick, S. B. Amini, & T. G. Pretlow, "CWR22: The First Human Prostate Cancer Xenograft with Strongly, Androgen-dependent and Relapsed Strains Both in Vivo and in Soft Agar," *Cancer Research*, vol. 56, no. 13, pp. 3042-3046, 1996.
- [32] C. A. Lipinski, "Drug-Like Properties and the Causes of Poor Solubility and Poor Permeability," *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, vol. 44, no. 1, pp. 235–249, 2000.
- [33] D. F. Veber, S. R. Johnson, H.-Y. Cheng, B. R. Smith, K. W. Ward, & K. D. Kopple, "Molecular Properties that Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates," *Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 45, no. 12, pp. 2615–2623, 2002.
- [34] G. Schneider, "Prediction of Drug-Like Properties," *Madame Curie Bioscience Database [Internet]*. Austin (TX): Landes Bioscience; 2000-2013 (Online). Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6404/> [Accessed Sep. 9, 2021].
- [35] A. Daina & V. Zoete, "A BOILED-Egg to Predict Gastrointestinal Absorption and Brain Penetration of Small Molecules," *ChemMedChem*, vol. 11, no. 11, pp. 1117-1121, 2016.
- [36] J. F. Blake, "Cheminformatics - Predicting the Physicochemical Properties of "Drug-Like" Molecules," *Current Opinion in Biotechnology*, vol. 11, no. 1, pp. 104–107, 2000.
- [37] L. K. Chico, L. J. Van Eldik, & D. M. Watterson, "Targeting Protein Kinases in Central Nervous System Disorders," *Nature Reviews Drug Discovery*, vol. 8, pp. 892–909, 2009.
- [38] A. Mahringer, E. Puris, & G. Fricker, "Crossing the Blood-Brain Barrier: A Review on Drug Delivery Strategies Using Colloidal Carrier Systems," *Neurochemistry International*, vol. 147, no. 105017, 2021.
- [39] S. M. M. Alsanosi, C. Skiffington, & S. Padmanabhan, "Pharmacokinetic Pharmacogenomics," in *Handbook of Pharmacogenomics and Stratified Medicine*, S. Padmanabhan, Ed. London: Academic Press, 2014, pp. 341-364.
- [40] M. Rostkowski, O. Spjuth, & P. Rydberg, "WhichCyp: Prediction of Cytochromes P450 Inhibition," *Bioinformatics*, vol. 29, no. 16, pp. 2051-2052, 2013.
- [41] E. H. Kerns & L. Di, *Drug-like Properties: Concepts, Structure Design and Methods: from ADME to Toxicity Optimization*. London: Academic Press, 2008.
- [42] D. Mulliner, F. Schmidt, M. Stolte, H. P. Spirkel, A. Czich, & A. Amberg, "Computational Models for Human and Animal Hepatotoxicity with a Global Application Scope," *Chemical Research in Toxicology*, vol. 29, no. 5, pp. 757-767, 2016.
- [43] C. Xu, F. Cheng, L. Chen, Z. Du, W. Li, G. Lu, P. W. Lee, & Y. Tang, "In Silico Prediction of Chemical Ames Mutagenicity," *Journal of Chemical Information and Modeling*, vol. 52, no. 11, pp. 2840-2847, 2012.
- [44] T. Lei, Y. Li, Y. Song, D. Li, H. Sun, & T. Hou, "ADMET Evaluation in Drug Discovery: 15. Accurate Prediction of Rat Oral Acute Toxicity using Relevance Vector Machine and Consensus Modeling," *Journal of Cheminformatics*, vol. 8, no. 6, 2016.