

**STUDI *IN SILICO* SENYAWA AKTIF PADA DAUN SAMBILOTO  
(*Andrographis paniculata*) SEBAGAI INHIBITOR ANDROGEN PADA KANKER  
PROSTAT**

***IN SILICO STUDY OF ACTIVE COMPOUNDS IN SAMBILOTO (*Andrographis  
paniculata*) LEAVES AS ANDROGEN INHIBITORS IN PROSTATE CANCER***

**Belva Annora Alfita Davinali<sup>1</sup>, Manuela Joy Stephanie<sup>1</sup>, Hasya Qanita Ali Hanifa<sup>1</sup>,  
Khanna Ragita Aurelia<sup>1</sup>, Rizky Prasiska<sup>1</sup>, Halwa Aulia Nurdin<sup>1</sup>, Rina Fajri Nuwarda<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>Departemen Analisis Farmasi dan Kimia Medisinal, Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran,  
Sumedang, Indonesia 45363

\*Corresponding author email: rina.nuwarda@unpad.ac.id

**Abstrak**

Kanker prostat adalah penyakit kanker yang berkembang di sel-sel kelenjar prostat pria, yang dapat menyebar ke bagian tubuh lainnya, terutama tulang dan nodus limfa. Di Indonesia, kanker prostat menjadi kanker kelima yang paling umum terjadi pada pria, dan menempati urutan kedua kanker paling umum terjadi pada pria di dunia. Reseptor Androgen (AR) adalah protein reseptor yang berperan penting dalam pertumbuhan sel kanker prostat dan telah digunakan sebagai sel target untuk pengembangan obat terkait penyembuhan kanker prostat. Penelitian ini bertujuan untuk studi *in silico* aktivitas senyawa kimia pada daun tanaman sambiloto (*Andrographis paniculata*) untuk menghambat reseptor Androgen (1E3G) untuk mengobati kanker prostat. Penelitian dilakukan dengan metode *molecular docking* menggunakan perangkat lunak Chemdraw, Chem3D, AutoDockTools 1.5.6., BIOVIA Discovery Studio 2021, dan Ligandscout. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa Andrografolid mempunyai energi ikatan bebas  $\Delta G$  terendah yaitu -10.73 KKal/mol serta interaksi pada beberapa residu asam amino yang sama dengan ligan alami, yaitu Metribolon. Karena itu dapat disimpulkan bahwa dari daun sambiloto senyawa andrografolid merupakan senyawa yang paling berpotensi dalam penghambatan reseptor Androgen.

**Kata kunci** : Andrographolide, reseptor androgen, studi *in silico*

**Abstract**

*Prostate cancer is a malignancy in men's prostate gland cells, which can spread to other parts of the body, most commonly bones and lymph nodes. In Indonesia, prostate cancer is the third most common type of cancer among men, and is the second most common cancer in men in the world. Androgen receptor (AR) is a receptor protein that plays an important role in the growth of prostate cancer cells and has been used as a target cell for developing drugs for prostate cancer treatment. This research aims to study in silico the activity of chemical compounds in the leaves of the sambiloto plant (*Andrographis paniculata*) to inhibit the Androgen receptor (1E3G) to treat prostate cancer. Tests were carried out with molecular docking method using the software Chemdraw 3D, AutoDockTools 1.5.6., BIOVIA Discovery Studio 2021, and Ligandscout.*

*The results showed that Andrographolid compounds had the lowest  $\Delta G$  free bond energy of -10.73 KKal/mol and interactions in several amino acid residues that were the same as natural ligands, namely Metribolon. Therefore, it can be concluded that from sambiloto leaves, andrographolid compounds are the most potential compounds in inhibiting Andorgen receptors.*

**Keywords :** *Andrographolide, Androgen receptor, in silico study.*

## **PENDAHULUAN**

Sambiloto memiliki senyawa metabolit sekunder berupa andrografolid pada analisis kuantitatif menggunakan HPLC dengan kandungan sebesar 2,208%. Dalam pustaka lain juga menyatakan daun sambiloto memiliki kandungan alkaloid, tanin, dan saponin. Pengujian pada ekstrak etil asetat daun sambiloto menggunakan spektrofotometri IR dan UV-Vis menunjukkan kemungkinan adanya gugus fungsi triterpenoid pada panjang gelombang 278 nm dan 202 nm. Salah satu senyawa yang terkandung dalam sambiloto tersebut dapat digunakan sebagai anti kanker (Bialangi *et al*, 2022; Prihatini *et al*, 2020).

Kanker adalah pertumbuhan sel tubuh yang tidak normal yang sering menyerang organ lain. Komponen aktif dari daun sambiloto berupa andrografolid dapat melakukan fungsi anti-kanker dengan menghalangi jalur TLR4 melalui p50 terhadap sintesis NF-kB. Pada akhirnya, ini menghentikan sintesis mediator target gen yang diperlukan sel kanker, yang menghentikan perkembangan sel kanker (Febyan dan Hudiyono, 2016). Kanker prostat adalah jenis keganasan paling umum dan menjadi penyebab utama kematian akibat kanker pada pria.

Menurut data yang dihimpun oleh Kementerian Kesehatan Republik

Indonesia pada tahun 2018, prevalensi kanker prostat menduduki posisi ketiga sebagai kanker terbanyak pada pria di Indonesia dengan jumlah kasus 1.102 pasien pada rumah sakit pusat pendidikan (Jakarta, Surabaya, dan Bandung) selama delapan tahun terakhir.

Prostat merupakan kelenjar kecil berukuran seperti kenari yang berada di dasar kandung kemih pada pria. Kelenjar ini terdiri dari dua lobus simetris dan mengelilingi bagian awal uretra yang membawa urin dari kandung kemih ke penis. Uretra juga mengalirkan air mani, yaitu cairan yang mengandung sperma. Kanker prostat adalah salah satu kondisi kelenjar prostat yang terus berkembang. Pertumbuhan sel prostat ini biasanya tidak menimbulkan gejala, tetapi karena terus berkembang sehingga dapat menyebabkan rasa sakit dan kesulitan saat buang air kecil (Parker *et al*, 2020).

Salah satu cara pengobatan kanker prostat adalah dengan menghentikan aktivitas androgen pada reseptor androgen. Reseptor androgen berperan dalam mengendalikan proliferasi sel kanker prostat, yang dapat dihambat melalui pemblokiran reseptor oleh senyawa yang dapat bersaing dengan hormon androgen (Ambarsari *et al.*, 2014). Operasi, radioterapi, dan kemoterapi adalah beberapa metode pengobatan kanker prostat yang memiliki efek samping yang cukup

tinggi bagi pasien. Misalnya, radioterapi dapat menyebabkan kerusakan DNA dan kematian sel, yang menyebabkan sel kanker lebih parah daripada sel normal. Oleh karena itu, metode *in silico* digunakan pada tanaman daun sambiloto (*Andrographis paniculata*), yang merupakan salah satu dari banyak tumbuhan yang digunakan sebagai tanaman obat dan digunakan sebagai alternatif terapi yang dapat meminimalkan efek sampingnya. Andrografolide telah terbukti menghambat pertumbuhan sel kanker dan 50% penghambatan pertumbuhannya berkisar antara 10 hingga 28  $\mu\text{M}$ , tergantung pada jenis sel kanker yang diuji (Roman, 2019). Proses penemuan obat merupakan sebuah jalur yang sulit dan penuh tantangan, sehingga hanya sedikit kandidat yang berkembang dari senyawa yang berhasil menjadi produk yang tersedia secara komersial. Hal ini disebabkan oleh beberapa faktor, seperti afinitas pengikatan yang buruk, efek yang tidak tepat sasaran, atau sifat fisikokimia seperti kelarutan atau stabilitas. Proses ini semakin rumit karena tingginya biaya penelitian dan pengembangan serta kebutuhan waktu.

Oleh karena itu, penting untuk mengoptimalkan setiap langkah proses untuk memaksimalkan peluang keberhasilan. Seiring berjalannya waktu, saat ini terdapat perangkat lunak dan perangkat keras komputasi telah merevolusi penggunaan metode *in silico* dalam perancangan obat, dengan akses ke komputer berkinerja tinggi yang memungkinkan penghitungan yang lebih kompleks dan kumpulan data yang lebih besar dapat diproses dengan mudah

seperti pemodelan, simulasi, atau pengurutan gen (Chang *et al*, 2023).

Metode *in silico*, yang melibatkan pemodelan atau simulasi komputasi, dianggap cukup efektif dalam penemuan obat baru. Studi *in silico* juga dapat digunakan untuk menemukan senyawa bahan alam terhadap protein target. Selain itu, studi *in silico* membutuhkan metode yang divalidasi untuk menemukan interaksi potensial antara senyawa ligan dan reseptor (Hardianto *et al*, 2019).

## **METODE PENELITIAN**

### **Tahapan Penelitian**

#### **a. Persiapan Alat dan Bahan**

Penelitian dilakukan dengan perangkat lunak berupa Chemdraw, Chem3D, AutoDockTools 1.5.6., BIOVIA Discovery Studio 2021, dan Ligandscout serta laptop dengan merk Lenovo *Ideapad* 3 14IML05.

#### **b. Prediksi *Lipinski Rule of Five***

Senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada daun sambiloto dilakukan pengujian karakteristik sifat fisikokimia berdasarkan aturan *Lipinski Rule of Five* (RO5). Prediksi sifat fisikokimia dilakukan menggunakan situs *SwissADME* untuk melihat permeabilitas suatu senyawa dan memprediksi kemampuan senyawa dalam pemberian secara oral.

#### **c. Penentuan ADME/Tox**

Penentuan profil *ADME/Tox* meliputi penilaian absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas dilakukan dengan memasukkan senyawa uji ke situs PreADMET. Terdapat fitur

prediksi dari PreADMET, yaitu *ADME Prediction* dan *Toxicity Prediction*. Parameter yang didapatkan berupa nilai HIA (*Human Intestinal Absorption*) untuk prediksi penyerapan obat pada usus, permeabilitas sel Caco-2, nilai PPB (Plasma Protein Binding) sebagai prediksi kemampuan ikatan senyawa pada protein plasma, dan nilai BBB (*Blood Brain Barrier*). Pada uji toksisitas yang akan didapatkan adalah sifat mutagen dan karsinogen.

#### d. Pemodelan Farmakofor

Pemodelan farmakofor terdiri dari 3 (tiga) tahapan antara lain preparasi database, pemodelan farmakofor, dan validasi farmakofor. Pada tahap pertama, database berupa active dan decoy yang akan dipreparasi diunduh dengan situs *DUD-E* dan disimpan dengan format *ldb*. Preparasi database juga dilakukan pada senyawa uji dengan mengatur ulang *ligandscout* pada laman semua atau kosong lalu menekan *ligandbased perspective*. Kemudian, memasukkan satu persatu senyawa uji menggunakan fitur *Insert*, mengubah tipenya dalam bentuk *test* dan disimpan dengan format *ldb*. Setelah itu, pemodelan dilakukan dengan menggunakan *LigandScout* dan mereset dengan cara mengklik '*Restore Default*' pada bagian '*File*'. Kemudian mengklik bagian '*Ligand Based*' serta membuka *file* untuk memilih *database active* yang telah dibuat sebelumnya. Berikutnya adalah memastikan semua senyawa telah diminimisasi. Setelah dipastikan maka dapat dilakukan pembuatan *cluster* lalu menyisakan satu senyawa bertipe '*Training*' pada setiap *cluster* dan

menjadikan senyawa lainnya '*Ignored*'. Selanjutnya dapat mengklik tombol '*Create Pharmacophore*' hingga didapat 1-10 model farmakofor dengan file *.pmz*.

Setelah mendapat 10 model farmakofor, model-model tersebut dapat ditest satu persatu dengan cara memindahkan 1 model dengan klik '*Copy to another perspective*'. Kemudian mengklik icon warna hijau pada bagian tengahnya, mengklik '*Screening Perspective*', memindahkan model pada kolom '*Screening*'. Lalu, mengklik '*Load Screening Database*' pada kolom screening dan memilih data *base active* dan *decoy* yang telah dibuat sebelumnya. Setelah itu, menandai *database active* menggunakan warna hijau dan *decoy* warna merah untuk melakukan '*Perform Screening*'. Pada akhir proses akan didapat kurva ROC dan nilai AUC untuk digunakan dalam menentukan model terbaik.

#### e. Penambatan Molekul (*Molecular Docking*)

Penambatan molekuler meliputi preparasi reseptor, preparasi ligand, penambatan molekul, analisa hasil, visualisasi (pembuatan kompleks, *overlay*, 2D, dan 3D). Langkah pertama yang dilakukan adalah menggunakan situs *Protein Data Bank* untuk mengunduh protein yang sesuai dengan target reseptor. Kemudian menggunakan fitur-fitur yang ada pada *Biovia Discovery Studio* untuk melakukan preparasi reseptor dan preparasi ligand. Setelah semua persiapan selesai, maka dapat dilakukan penambatan molekul dengan memanfaatkan aplikasi *Autodock* untuk mendapatkan hasil yang nantinya

akan dianalisa dengan *command prompt*. Selanjutnya dilakukan juga empat tahap visualisasi. Visualisasi yang pertama bertujuan untuk membuat kompleks dengan *autodock* yang disimpan dengan format *.pdb* agar dapat dibuka menggunakan Biovia. Visualisasi yang kedua bertujuan membuat *overlay* dengan Biovia dengan format *.pdb* pada file kompleks yang telah dibuat sebelumnya. Visualisasi yang ketiga bertujuan untuk mendapatkan struktur dua dimensi dari senyawa yang ada dan hasil akhirnya disimpan dalam format *image*. Visualisasi yang terakhir bertujuan mendapatkan struktur tiga dimensi dengan memanfaatkan aplikasi yang sama yaitu Biovia. Kemudian *file* yang didapat disimpan dalam bentuk *image*.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Setelah didapatkan sepuluh senyawa uji yang terkandung dalam daun sambiloto. Senyawa-senyawa tersebut diuji menggunakan *Lipinski Rule of Five* 5 untuk melihat aktivitas farmakologis atau biologis yang memadai untuk menjadi kandidat obat yang efektif dan aman jika diberikan secara oral. Tujuan dilakukannya prediksi ini untuk menyeleksi senyawa-senyawa yang potensial dari awal proses pengembangan obat, sehingga menghemat waktu dan sumber daya dengan memfokuskan penelitian pada senyawa yang lebih mungkin berhasil dalam tahap pengujian klinis.

Persyaratan Lipinski meliputi bahwa berat molekul (BM) tidak boleh melebihi 500 Da, nilai koefisien partisi (logP) tidak boleh lebih dari 5, jumlah

ikatan donor dan akseptor hidrogen harus kurang dari 5, dan jumlah akseptor ikatan hidrogen harus kurang dari 10. Senyawa uji dianggap memenuhi persyaratan RO5 dan layak untuk dikembangkan menjadi sediaan oral jika hanya terdapat satu pelanggaran terhadap aturan *Lipinski* (*Lipinski et al*, 2004).

Berdasarkan pengujian *Lipinski Rule of Five* senyawa yang tidak memenuhi persyaratan karena memiliki lebih dari satu kriteria yang tidak memenuhi aturan RO5 adalah Bisandrografolid A dan 5,2',3'-Trihydroxy-7,8-dimethoxyflavone-3'-glucoside menandakan senyawa tersebut sulit menembus membran secara difusi pasif dan tidak bisa dibentuk sediaan oral. Hasil *Lipinski Rule of Five* dapat dilihat pada Tabel 1.

Langkah selanjutnya dalam proses pemilihan suatu senyawa sebagai calon obat potensial adalah melakukan analisis ADMET untuk meminimalisir kemungkinan kegagalan pada pengembangan obat. Validasi ADME dan sifat toksisitasnya dilakukan dengan menggunakan program PreADMET. Analisis ADMET mencakup beberapa parameter, yaitu skor HIA dan Caco2 untuk mengevaluasi aspek penyerapan, serta PPB dan BBB untuk menilai aspek distribusi. Ada tiga tingkatan skor HIA. Skor 0-20% termasuk rendah, skor 20-70% termasuk sedang, dan skor 70-100% termasuk tinggi. HIA yang baik berada pada kisaran 70-100%, artinya terserap dengan baik di usus. Berdasarkan data yang diperoleh, senyawa asam kuinat mempunyai daya serap rendah, dan senyawa wogonin-5-

glukosida serta 5,2',3'-trihidroksi-7,8-dimetoksiflavon-3'-glukosida mempunyai daya serap sedang. dan senyawa yang lainnya menunjukkan daya serap yang baik. Lalu ada Human colon adenocarcinoma (Caco-2), yang berfungsi sebagai prediktor

permeabilitas pergerakan obat melalui sel epitel adenokarsinoma usus besar. Berdasarkan data yang diperoleh, hanya senyawa andrografolida yang ditemukan memiliki permeabilitas atau kapasitas penyerapan yang tinggi pada sel Caco2 karena berada pada kisaran >70 nm/s.

**Tabel 1.** Hasil *Lipinski rule of five*.

| No  | Nama Senyawa   | Berat Molekul (<500Da) g/mol | Log P (<5) | Ikatan Hidrogen |                | Keterangan     |
|-----|--|------------------------------|------------|-----------------|----------------|----------------|
|     |  |                              |            | Donor (<5)      | Akseptor (<10) |                |
| 1.  | Andrographolide                                      | 350.4                        | 2.2        | 3               | 5              | Memenuhi       |
| 2.  | Skullcapflavone                                      | 314.29                       | 3          | 2               | 6              | Memenuhi       |
| 3.  | Asam Kuinat  | 192.166                      | -          | 5               | 6              | Memenuhi       |
| 4.  | Wogonin-5 glucoside                                  | 446.4                        | 0.6        | 5               | 10             | Memenuhi       |
| 5.  | Andrographidin A                                     | 462.4                        | 0.7        | 4               | 10             | Memenuhi       |
| 6.  | Bisandrographolide A                                 | 664.9                        | 6.1        | 4               | 8              | Tidak memenuhi |
| 7.  | Apigenin   | 270.237                      | 2.577      | 3               | 5              | Memenuhi       |
| 8.  | Neoandrographolide                                   | 480.6                        | 2.6        | 4               | 8              | Memenuhi       |
| 9.  | 5,2',3'-Trihydroxy-7,8-dimethoxyflavone-3'-glucoside | 492.4                        | 0.8        | 6               | 12             | Tidak Memenuhi |
| 10. | 3,19-isopropylideneandrographolide                   | 390.5                        | 3.2        | 1               | 5              | Memenuhi       |

Dalam analisis distribusi, dilakukan evaluasi terhadap PPB dan BBB. PPB (Protein Plasma Binding) adalah tolak ukur yang digunakan sebagai nilai distribusi berdasarkan kemampuan obat untuk mengikat protein plasma. Nilai PPB dikategorikan menjadi dua kategori: jika nilainya melebihi 90%, maka ikatan obat terhadap protein plasma dianggap kuat, sedangkan nilai di bawah 90% menunjukkan ikatan yang lemah. Obat dianggap efektif jika dapat dengan mudah melintasi membran untuk mencapai targetnya, dibandingkan dengan hanya berikatan dengan protein plasma (Andani *et al*, 2022).

Berdasarkan hasil yang diperoleh, senyawa Andrografolid, Apigenin, Neoandrografolid, Bisandrografolid A, 3,19-isopropylideneandrografolid memiliki ikatan yang kuat karena mempunyai nilai diatas 90%. BBB, atau (*Blood Brain Barrier*) sawar darah otak, adalah batasan yang digunakan untuk menilai apakah suatu obat dapat melewati area ini. Sawar darah otak adalah faktor krusial karena senyawa yang aktif pada sistem saraf pusat harus mampu menembus area ini. Namun, jika target obat tidak berhubungan dengan aktivitas sistem saraf pusat, maka obat tersebut sebaiknya tidak melwati sawar darah

otak untuk mneghindari efek samping pada sistem saraf pusat. Kemampuan menembus otak yang tinggi dapat menyebabkan masalah. Jika nilai BBB kurang dari 2, ini menunjukkan kemampuan sedang untuk melewati sawara darah otak. Berdasarkan data yang diperoleh, semua senyawa menunjukkan kemampuan penetrasi sedang ke area sawar otak karena nilai mereka kurang dari dua (Hameed *et al*, 2020). Terakhir, terdapat aspek toksisitas. Pengujian toksisitas dilakukan dengan menggunakan uji Ames untuk menentukan apakah senyawa uji memiliki potensi mutagenik. Selain itu, potensi karsinogenik senyawa obat juga diuji pada tikus dan mencit untuk mengevaluasi kemungkinan efek kanker (Hardjono, 2016).

Mutagenisitas dan toksisitas mengindikasikan apakah ligan yang diuji memiliki sifat mutagenik dan/atau karsinogenik pada mencit dan tikus. Pertama, mari kita lihat sifat mutageniknya. Data yang diperoleh menunjukkan bahwa senyawa andrografin A dan 5,2',3'-trihidroksi-7,8-dimetoksiflavon-3'-glukosida tidak bersifat mutagenik. Enam senyawa terbukti memiliki sifat mutagenik berdasarkan pengujian pada tikus menggunakan prediksi ADME/Tox. Dari segi karsinogenisitas, empat senyawa menunjukkan sifat karsinogenik, sedangkan empat senyawa lainnya tidak. Data uji pada tikus menunjukkan bahwa lima senyawa bersifat karsinogenik, sementara lima senyawa lainnya tidak. Dengan

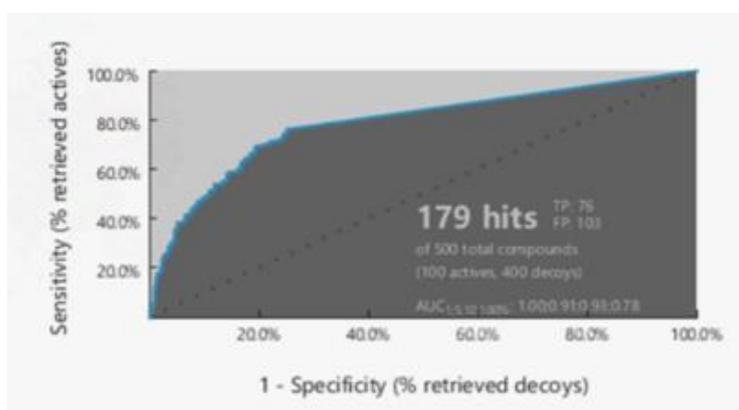
demikian, data karsinogenisitas menunjukkan bahwa beberapa senyawa ligan yang diuji memiliki sifat karsinogenik pada mencit dan/atau tikus.

Setelah analisis ADME/Tox selesai, proses dilanjutkan dengan pemodelan dan skrining farmakofor, diawali dengan tahapan validasi. Tujuan dari validasi ini adalah untuk mengukur akurasi dalam membedakan antara senyawa aktif dan *decoy* (inaktif). Pemodelan farmakofor yang efektif dapat secara optimal mengidentifikasi senyawa aktif dan mengurangi deteksi senyawa yang tidak aktif. Dalam proses validasi, digunakan 500 senyawa yang terdiri dari 100 senyawa aktif dan 400 senyawa *decoy*. Hasil validasi, seperti yang ditampilkan pada Gambar 1, menunjukkan adanya 179 senyawa hit terbaik dengan nilai *Area Under Curve* (AUC) sebesar 78%. Nilai AUC ini menunjukkan bahwa metode yang digunakan valid dan dapat diterima karena memenuhi syarat nilai AUC yang harus  $\geq 70\%$ .

Dilakukan pengujian 10 senyawa pada tanaman Sambiloto dan diperoleh 9 senyawa hit, yaitu Wogonin-5 glucoside, 5,2',3'Trihydroxy7,8dimethoxyflavone-3'-glucoside, Skullcapflavone, Neoandrografolid, Bisandrografolid A, Apigenin, Andrografolide, Andrografidin A, dan 3,19isopropylideneandrografolid. Senyawa terbaik dari hasil skrining farmakofor adalah Andrografolide dengan nilai pharmacophore fit score tertinggi, yaitu 36,04.

**Tabel 2.** Hasil penentuan ADME/Tox.

| No. | Nama Senyawa   | Absorpsi  |                 | Distribusi |           | Toksitas    |            |         |
|-----|--|-----------|-----------------|------------|-----------|-------------|------------|---------|
|     |  | HIA (%)   | Caco-2 (nm/sec) | PPB (%)    | BBB       | Mutagen     | Karsinogen |         |
|     |  |           |                 |            |           |             | Men<br>cit | R<br>at |
| 1.  | Andrographolide                                      | 87.687636 | 19.1341         | 94.873445  | 0.170359  | Mutagen     | +          | -       |
| 2.  | Skullcapflavone                                      | 92.599386 | 18.8922         | 77.263699  | 0.0426419 | Mutagen     | -          | +       |
| 3.  | Asam Kuinat  | 20.286936 | 8.27242         | 6.595022   | 0.428586  | Mutagen     | -          | +       |
| 4.  | Wogonin-5 glucoside                                  | 65.898150 | 4.70017         | 63.89676   | 0.0382906 | Mutagen     | +          | -       |
| 5.  | Andrographidin A                                     | 74.811015 | 16.0994         | 67.067552  | 0.0271418 | Non Mutagen | -          | -       |
| 6.  | Bisandrographolide A                                 | 91.832761 | 20.8763         | 93.935386  | 1.02601   | Mutagen     | -          | +       |
| 7.  | Apigenin   | 88.122839 | 10.5468         | 97.253409  | 0.565113  | Mutagen     | +          | +       |
| 8.  | Neoandrographolide                                   | 81.330115 | 18.118          | 93.373016  | 0.125539  | Mutagen     | +          | -       |
| 9.  | 5,2',3'-Trihydroxy-7,8-dimethoxyflavone-3'-glucoside | 37.003573 | 10.3041         | 54.413214  | 0.0341679 | Non Mutagen | +          | -       |
| 10. | 3,19-isopropylideneandrographolide                   | 96.143621 | 37.7574         | 92.403336  | 0.195235  | Mutagen     | +          | +       |



**Gambar 1.** Kurva validasi (kurva ROC model 8).

Langkah awal dalam penambatan molekuler adalah validasi metode dengan menambatkan ulang protein target terhadap ligan alami. Dalam proses *docking*, pengaturan kotak grid

digunakan untuk menentukan ruang di mana ligan akan terikat. Mengingat ligan yang telah terikat dengan makromolekul protein saat mengunduh, penentuan gridbox dilakukan. Hasil validasi metode

penambatan molekul reseptor androgen (1E3G) dengan ligan alami menunjukkan RMSD sebesar 0,479 Å, yang menunjukkan bahwa penambatan molekul reseptor androgen dengan ligan asli valid. Metode penambatan molekuler dianggap valid jika nilai RMSD < 2 Å (Yasin dkk, 2020).

Semakin kecil nilai RMSD yang didapat maka semakin kecil pula kesalahan yang terjadi dalam proses *docking*. *Gridbox* yang didapatkan menghasilkan ukuran kotak 40 x 40 x 40 dengan grid coordinate x = -0.086; y = 30.89; z = 4.301.



**Gambar 2.** *Overlay* ligan alami sebelum (hijau) dan sesudah (biru) penambatan molekuler.

Penambatan molekuler dilakukan pada 10 senyawa uji dan metribolon sebagai ligan alami dengan menggunakan gridbox yang sesuai pada hasil validasi metode. Hasil dari penambatan molekul 10 senyawa uji dapat dilihat pada tabel 5. Parameter yang digunakan pada penambatan molekuler meliputi energi ikatan, konstanta inhibisi, dan konformasi ikatan antara senyawa uji dengan reseptor. Reseptor yang digunakan

adalah 1E3G yang merupakan struktur kristal dari domain pengikat DNA dari reseptor androgen (Tan et al, 2015). Ekspresi berlebih dari reseptor androgen, yang mengontrol proliferasi sel kanker prostat pada kelenjar prostat, merupakan salah satu penyebab kanker prostat sehingga dibutuhkan ligan yang menggantikan ligan asli pada reseptor androgen (Pramesti dan Laksmiani, 2022).

**Tabel 3.** Hasil penambatan molekul senyawa uji.

| Senyawa                     | Binding Energy (Kkal/mol) | KI (nm) | Interkasi dengan asam amino |                      |  |
|-----------------------------|---------------------------|---------|-----------------------------|----------------------|--|
|                             |                           |         | Ikatan Hidrogen             | Ikatan Van der Waals | Ikatan lainnya   |
| Metribolone (Native Ligand) | -11.99                    | 1.63    | THR A: 877;<br>ASN A: 705   |                      | Alkyl & Pi-Alkyl: LEU A: 701;<br>MET A: 780; MET A: 742; |

|                     |        |        |  |   |
|---------------------|--------|--------|--|---|
|                     |        |        |  | LEU A:<br>704; MET<br>A: 745;<br>PHE A:<br>764; PHE<br>A: 876   |
| Andrographolide     | -10.73 | 13.72  | ASN<br>A:705   | LEU A: 701;<br>PHE A: 891;<br>MET A: 895;<br>THR A: 877;<br>MET A: 780;<br>MET A: 787;<br>VAL A: 746;<br>PHE A: 746;<br>ARG A: 752;<br>MET  |
| Skullcapflavone     | -8.41  | 682.66 | ASN A:<br>705;<br>THR A:<br>877                                    | A: 745;<br>MET A:<br>749;<br>GLN A:<br>711;<br>LEU A:<br>707;<br>GLY A:<br>708<br>Alkyl & Pi-<br>Alkyl: MET<br>A: 749<br>Pi-Pi T-<br>shaped:<br>PHE A: 764<br>Pi-<br>Sigma&Pi-<br>Sulfur:<br>MET A: 745 |
| Asam kuinat         | -4.39  | 254130 | GLN<br>A:711;<br>ARG A:<br>752;<br>GLY A:<br>708;<br>LEU A:<br>704 | MET<br>A:787;<br>MET<br>A:780;<br>MET A:<br>749;<br>MET A:<br>745;<br>MET A:<br>895; TRP<br>A: 741<br>Alkyl & Pi-<br>Alkyl: LEU<br>A: 707;<br>PHE A: 764  |
| Wogonin-5 glucoside | -6.68  | 12650  | LEU A:<br>873;   | ILE<br>A:899;<br>PHE<br>Alkyl & Pi-<br>Alkyl: LEU<br>A:707;   |

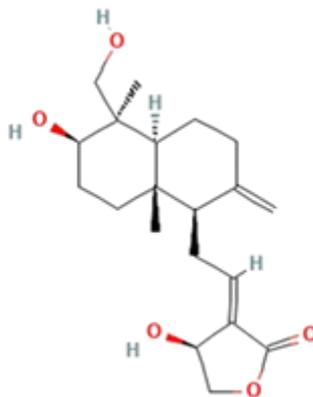
|                      |       |                 |                                 |  |   |
|----------------------|-------|-----------------|---------------------------------|--|---|
|                      |       |                 | LEU A:<br>704                   | A:891;<br>TRP<br>A:741;<br>ASN<br>A:705 ;<br>GLY A:<br>708 ;<br>LEU<br>A:880 ;<br>LEU A:<br>701;<br>MET<br>A:780 ;<br>PHE<br>A:876 ;<br>MET A:<br>787 ;<br>GLN<br>A:783 ;<br>VAL A:<br>749 ;<br>ARG A:<br>752 ;<br>GLN A:<br>711 | MET<br>A:742;<br>MET<br>A:749;<br>MET A:895<br>Pi-Pi T-<br>shaped:<br>PHE A:764             |
| Andrographidin A     | -5.42 | 65730           | LEU A:<br>701;<br>ASN A:<br>705 | Alkyl & Pi-<br>Alkyl: LEU<br>A:707;<br>MET A:<br>269; TAP<br>A:741;<br>MET A:895<br>; EE A:899<br><br>Pi-Pi T-<br>shaped:<br>PHE A: 764<br><br>Pi-<br>Sigma&Pi-<br>Sulfur:<br>MET A:<br>262; MET<br>A:745                        |   |
| Bisandrographolide A | 30.17 | unavailabl<br>e | GLU<br>A:872;<br>MET<br>A:745   | VAL<br>A:889;<br>PHE<br>A:878;<br>LEU<br>A:882;<br>ILE<br>A:899;   | Unfavorable<br>Bump &<br>Unfavorable<br>Donor<br>Donor :<br>LEU A:873;<br>PHE A:876;<br>MET |

|   |       |             |   |   |
|---|-------|-------------|---|---|
|   |       |             | GLN<br>A:783;<br>LEU<br>A:704;<br>TYR<br>A:763;<br>ALA<br>A:748;<br>ALA<br>A:765;<br>ZRP<br>A:741 | A:780;<br>MET<br>A:749;<br>ARG A:<br>752; PHE<br>A:764; GLN<br>A:731; GLY<br>A:708; ASN<br>A:705; PHE<br>A:892; THR<br>A:872<br>Sulfur-X:<br>MET A:742<br>Alkyl & Pi-<br>Alkyl: LEU<br>A:701; LEU<br>A:880;<br>MET<br>A:895; LEU<br>A:707 |
| Apigenin  | -9.42 | 12380       | ASN<br>A:705;<br>GLN<br>A:711;<br>ARG<br>A:752;<br>LEU<br>A:873                                   | LEU A:704;<br>LEU A:707;<br>MET<br>A:749; PHE<br>A:764;<br>MET<br>A:745;<br>MET<br>A:749;<br>MET A:780  |
| Neoandrographolide  | 16.27 | unavailable | MET<br>A:807;<br>GLY<br>A:708   | Unfavorable<br>Bump: ALA<br>A:748; GLN<br>A:711; LEU<br>A:744; LYS<br>A:808; PHE<br>A:747<br>Alkyl & Pi-<br>Alkyl: MET<br>A:745; VAL<br>A:685; VAL<br>A:715; LEU<br>A:811;  |
| 5,2',3'- Trihydroxy-7,8-<br>dimethoxyflavone-3'-<br>glucoside | -6.57 | 15230       | ASN<br>A:705;<br>MET A:<br>745;<br>PHE A:<br>764  | Alkyl & Pi-<br>Alkyl: PHE<br>A:891; LEU<br>A:880; LEU<br>A: 701;<br>LEU A:704;<br>LEU A:873;<br>MET A:787   |

|  |      |       |               |   |
|--|------|-------|---------------|---|
| 3,19-<br>isopropylidemeandrographol<br>ide | -954 | 10205 | ASN A:<br>705 | Alkyl & Pi-<br>Alkyl: TRP<br>A:741;<br>MET<br>A:895; LEU<br>A: 704;<br>LEU A:707;<br>PHE A:764;<br>MET<br>A:745; VAL<br>A: 746;<br>MET A: 749 |
|--|------|-------|---------------|---|

Parameter yang akan didapatkan dari penambatan molekuler berupa energi bebas ikatan ( $\Delta G$ ), konstanta inhibisi (KI), dan interaksi ligan dengan residu protein. Energi bebas yang bernilai negatif menunjukkan bahwa reaksi dapat berlangsung secara spontan (Pratama, 2021). Selain itu, afinitas ligan terhadap reseptor dapat ditunjukkan oleh energi bebas. Apabila nilai  $\Delta G$  rendah maka menghasilkan afinitas ligan terhadap reseptor yang tinggi. Hasil penambatan molekuler menunjukkan bahwa seluruh senyawa uji tidak

memiliki energi bebas lebih rendah dari ligan alami. Pada Bisandrografolid dan Neoandrografolid memiliki nilai  $\Delta G$  positif maka reaksi yang terjadi tidak spontan. Senyawa uji dengan nilai  $\Delta G$  terendah dimiliki oleh Andrographolide dengan  $-10.73$  KKal/mol. Namun energi bebas Andrografolid masih lebih besar dari energi bebas metribolone sebagai ligan alami. Dapat diartikan afinitas yang dihasilkan Andrografolid dengan reseptor lebih rendah dibandingkan afinitas yang dihasilkan oleh ligan alami.



**Gambar 3.** Struktur andrografolid.

Konstanta inhibisi (KI) digunakan untuk mengetahui konsentrasi penghambatan yang diperlukan untuk

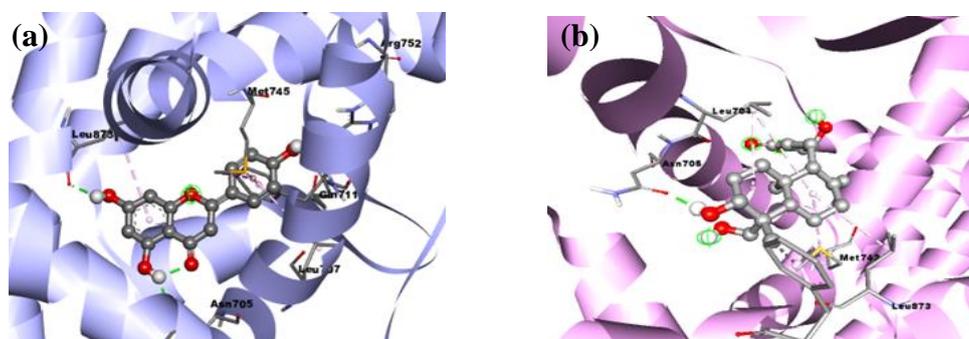
mengurangi laju reaksi enzimatik hingga setengah dari laju maksimalnya (Apriali dkk, 2022). Semakin rendah nilai KI,

semakin kuat afinitas inhibitor terhadap enzim target, yang menunjukkan bahwa konsentrasi yang lebih kecil dari inhibitor tersebut sudah efektif untuk menghambat aktivitas enzim. Pada senyawa uji andrografolid, nilai konstanta inhibisi (KI) sebesar 13.72 menunjukkan bahwa senyawa ini memiliki afinitas yang sangat kuat terhadap enzim target, mengindikasikan bahwa hanya konsentrasi yang sangat kecil diperlukan untuk efektif menghambat aktivitas enzim tersebut. Sebagai perbandingan, ligan alami dengan nilai KI sebesar 1.63 memiliki afinitas yang jauh lebih rendah terhadap enzim target, memerlukan konsentrasi yang lebih tinggi untuk mencapai tingkat inhibisi yang sama.

Interaksi antara reseptor dengan ligan akan menghasilkan jarak ikatan dan residu asam amino yang berikatan. Maka dari itu, proses visualisasi dilakukan untuk melihat interaksi tersebut. Tabel 5 menunjukkan interaksi antara ligan dengan asam amino. Diantara ikatan yang dapat terjadi dalam interaksi ini adalah ikatan hidrogen, ikatan Van der Waals, dan ikatan lainnya. Ikatan hidrogen lebih kuat

daripada ikatan Van der Waals karena dapat terbentuk meskipun jarak antara ligan dan reseptor cukup jauh (Frimayanti *et al.*, 2021).

Untuk mengetahui interaksi yang terjadi antara ligan dan reseptor perlu dilakukan pengamatan residu asam amino (Koban *et al.*, 2022). Ligan alami metribolone memiliki residu asam amino berupa ikatan hidrogen dengan asam amino THR A: 877 dan ASN A: 705 dan memiliki ikatan asam amino lainnya seperti tertera pada tabel 5. Pada senyawa uji mengandung setidaknya satu asam amino yang sama dengan residu ligan alami dimiliki oleh senyawa Andrografolid, Skullcapflavone, Andrografidin A, Apigenin, 5,2',3'-Trihydroxy-7,8-dimethoxyflavone-3'-glucoside, dan 3,19-isopropylidemeandrographolide. Hasil tersebut menandakan senyawa aktif dalam daun sambiloto memiliki potensi untuk berikatan dengan reseptor androgen (1E3G) karena memiliki jenis ikatan yang sama seperti ikatan yang terbentuk antara ligan alami dan reseptor.



**Gambar 4.** (a) Visualisasi 3D Senyawa Standar Metribolone dengan Reseptor 1E3G ; dan (b) Visualisasi 3D Complex Senyawa Andrografolid dengan Reseptor 1E3G.

Berdasarkan parameter hasil penambatan molekuler didapatkan senyawa uji dengan nilai mendekati ligan alam adalah senyawa andrografolid. Energi ikatan andrografolid adalah -10.73 kkal/mol, sedangkan ligan alami metribolon memiliki energi ikatan yang lebih kecil, yaitu -11.99 kkal/mol. Nilai energi ikatan yang lebih negatif pada metribolon menunjukkan bahwa ia memiliki interaksi yang lebih stabil dengan reseptor dibandingkan andrographolide. Namun, konstanta inhibisi (KI) dari andrografolid adalah 13,72 nM, yang jauh lebih rendah dibandingkan dengan metribolon yang memiliki KI sebesar 1,63 nM. Ini menunjukkan bahwa walaupun energi ikatan metribolon lebih besar, andrografolid memiliki afinitas yang lebih tinggi terhadap enzim target, karena memerlukan konsentrasi yang jauh lebih rendah untuk mencapai penghambatan yang efektif.

### **KESIMPULAN**

Berdasarkan hasil *studi in silico* daun sambiloto, meliputi Lipinski Rule of Five, prediksi ADME/Tox, hingga penambatan molekuler pada sepuluh senyawa aktif pada daun sambiloto didapatkan Andrografolid menjadi senyawa aktif yang paling berpotensi sebagai agen anti-kanker prostat karena memiliki interaksi terbaik dengan reseptor 1E3G. Andrografolid menunjukkan aktivitas penghambatan reseptor Androgen dengan  $\Delta G$  terendah -10.73 Kkal/mol mendekati energi bebas ligan alami dan nilai Konstanta Inhibisi (KI) sebesar 13,72 nM yang

menunjukkan afinitas tinggi melebihi senyawa ligan alami. Andrografolid juga memiliki interaksi pada residu asam amino yang sama dengan ligan alami berupa ikatan hidrogen ASN A: 705 dan ikatan asam amino lainnya PHE A: 876; dan MET A: 742.

### **KONFLIK KEPENTINGAN**

Pada penelitian ini tidak terdapat konflik kepentingan dalam artikel ilmiah yang ditulis.

### **DAFTAR PUSTAKA**

- Ambarsari, L., & Sumaryada, T. I., 2014. Simulasi Docking Senyawa Kurkumin dan Analognya Sebagai Inhibitor Reseptor Androgen pada Kanker Prostat. In *CURRENT BIOCHEMISTRY e-ISSN*.
- Andani, M., Mauri Ramdini Kamaludin, A., Ayu Sylfia Stannia Puspitasari Helmi, N., Keyshia Mei, K., Guspira, Y., Sabetta, O., & Lia Aulifa, D., 2022. In Silico Study of Compounds in Bawang Dayak (*Eleutherine palmifolia* (L) Merr.) Bulbs on Alpha Estrogen Receptors. *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention*.
- Apriali, K. D., Triana, E., Farhani, M. I., Khoirunnisa, A., & Nur'aini, Y. A., 2022. Studi Penambatan Molekul Dan Prediksi Admet Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman Kelor (*Moringa Oleifera* L.) Sebagai Inhibitor Bace1 Pada Penyakit Alzheimer. *FITOFARMAKA: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 12 (1), 58–67.
- Bialangi, N., Rahmatia Idris, R., Kilo, A. la, & Kilo, A. K., 2022. Isolasi dan

- Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Etil Asetat Daun Sambiloto. *Jamb.J.Chem*, 4 (1), 25–32.
- Chang, Y., Hawkins, B. A., Du, J. J., Groundwater, P. W., Hibbs, D. E., & Lai, F., 2023. A Guide to In Silico Drug Design. *Pharmaceutics* 15 (1).
- Febyan dan Hudyono, J., 2016. Peran Imunoterapi Komplementer Daun Sambiloto (*Andrographolide paniculata*) Sebagai Anti-Kanker Melalui Penghambatan Nuclear Factor-Kappab (Nf-Kb) Pada Jalur Toll-Like Receptor-4. *CDK-245*, 43 (10).
- Forestier-Román, I. S., López-Rivas, A., Sánchez-Vázquez, M. M., Rohena, Rivera, K., Nieves-Burgos, G., Ortiz-Zuazaga, H., Torres-Ramos, C. A., & Martínez-Ferrer, M., 2019. Andrographolide induces DNA damage in prostate cancer cells. *Oncotarget* 10 (10).
- Frimayanti, N., Nasution, M. R., & Etavianti, E., 2021. Molecular docking and molecular dynamic simulation of 1,5-benzothiazepine chalcone derivative compounds as potential inhibitors for Zika virus helicase. *Jurnal Riset Kimia*, 12 (1), 44–52.
- Hameed, S., 2020. In Silico Design, Synthesis and In Vitro Antidiabetic Activity of Novel 5-Furyl- 1,3,4-Thiadiazolines.
- Hardianto, A., Yusuf, M., Liu, F., & Ranganathan, S., 2018. Structure-based drug design workflow. *Encyclopedia of Bioinformatics and Computational Biology: ABC of Bioinformatics*, 1–3, 273–282.
- Hardjono, S., 2016. Prediksi sifat farmakokinetik, toksisitas dan aktivitas sitotoksik turunan Nbenzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea sebagai calon obat antikanker melalui pemodelan molekul. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 14(2), 246–255.
- Koryakina, Y., Ta, H. Q., & Gioeli, D., 2014. Androgen receptor phosphorylation: Biological context and functional consequences. *Endocrine-Related Cancer*, 21 (4). BioScientifica Ltd.
- Lipinski, C. A., 2004. Lead- and drug-like compounds: The rule-of-five revolution. *Drug Discovery Today: Technologies* 1 (4), 337–341.
- Koban, M. A.G., Lestari, S. R., & prSetiowati, F. K., 2022. Analisis In Silico Naringenin dari Umbi Akar Batu (*Gerrardanthus macrorrhizus* Harv.ex Benth. & Hook.f.) sebagai Antitusif terhadap Reseptor N-methyl-D-aspartate. *Biota : Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 172–182.
- Pramesti, N. L. P. C., & Laksmiani, N. L. P. C., 2023. Skrining Senyawa Aloesin Pada Lidah Buaya (*Aloe vera* (L.) Burm.f.) sebagai Antikanker Prostat Secara In Silico. *Prosiding Workshop Dan Seminar Nasional Farmasi*, 1, 495–506.
- Parker, C., Castro, E., Fizazi, K., Heidenreich, A., Ost, P., Procopio, G., Tombal, B., & Gillessen, S., 2020. Prostate cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow up. *Annals of Oncology*, 31 (9), 1119–1134.

- Pratama, A. B., Herowati, R., & Ansory, H. M., 2021. Studi Docking Molekuler Senyawa Dalam Minyak Atsiri Pala (*Myristica fragrans* H.) Dan Senyawa Turunan Miristisin Terhadap Target Terapi Kanker Kulit. *Majalah Farmaseutik*, 17 (2), 233.
- Prihatini, R., Syarif, A., & Bakhtiar, A., 2020. Morphology Character and Andrographolide Quantifications on Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.F.) Nees) Karakter Morfologi dan Kuantifikasi Andrografolid Pada Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.F.) Nees ). *Bioscience*, 4 (1), 109.
- Tan, M. E., Li, J., Xu, H. E., Melcher, K., & Yong, E. L., 2015. Androgen receptor: Structure, role in prostate cancer and drug discovery. *Acta Pharmacologica Sinica*, 36 (1), 3–23).
- Yasin, S. A., Azzahra, A., Ramadhan, N.E., & Mylanda, V., 2020. Studi Penambatan Molekuler dan Prediksi ADMET Senyawa Bioaktif Beberapa Jamu Indonesia terhadap SARS-CoV-2 Main Protease (Mpro). *Berkala Ilmiah Mahasiswa Farmasi Indonesia (BIMFI)*, 7 (2), 24–41.