

Studi Biokemoinformatika Metabolit Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) sebagai Agen Kanker Kolorektal

Biochemoinformation Study of Kersen (*Muntingia calabura* L.) Leaf Metabolites as Colorectal Cancer Agent

Tika Indrasari*, Rina Herowati, Nuraini Harmastuti

Universitas Setia Budi Surakarta
Jl. Letjen Sutoyo, Mojosongo, Jebres, Surakarta, Jawa Tengah 57127, Indonesia

*Corresponding author email: tikaindra18@gmail.com

Received 25-02-2022 Accepted 20-11-2022 Available online 20-01-2023

ABSTRAK

Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai anti kanker adalah daun kersen. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa daun kersen bermanfaat untuk antioksidan, antikanker, anti inflamasi, dan anti bakteri. Penelitian bertujuan untuk mengetahui senyawa terbaik yang dapat berikatan dengan target terbaik dari kanker kolorektal dan untuk mengetahui prediksi profil farmakokinetik serta profil toksisitas kandungan senyawa daun kersen. Makromolekul yang digunakan adalah target molekuler kanker kolorektal yang diperoleh berdasarkan skrining awal menggunakan prediksi *SwissPred*, *SuperPred* dan *Seasearch* dan ligan yang digunakan adalah senyawa daun kersen. Pembuktian dan visualisasi docking menggunakan Autodock 1.5.6. Prediksi Adme menggunakan *SwissADME* dan prediksi toksisitas menggunakan *Toxtree*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa daun kersen yang baik dari hasil $\Delta G_{binding}$ dan ikatan yang terjadi pada EGFR adalah senyawa *muntingone*; *5-hydroxy-7-methoxyflavone*; *chrysin*; dan senyawa yang baik pada GSK-3 β adalah *3,5-dihydroxy-6,7-dimethoxyflavone*; *7-hydroxyflavanone*; *2',4'-dihydroxychalcone*. Profil farmakokinetik dengan prediksi ADME memenuhi kriteria dari aturan *Lipinski*. Prediksi toksisitas 19 senyawa termasuk dalam toksisitas tinggi, senyawa *2',4'-dihydroxy-3'-methoxydihydro-chalcone*; *muntingone*; *2',4'-dihydroxychalcone*; *2',4'-dihydroxy-3'-methoxychalcone* menunjukkan positif terhadap genotoksik karsinogenik dan senyawa *2',4'-dihydroxy-3'-methoxydihydro-chalcone*; *muntingone*; *2',4'-dihydroxychalcone*; *2',4'-dihydroxy-3'-methoxychalcone* menunjukkan adanya peringatan terhadap mutagenesis.

Kata kunci: Antikanker, daun kersen, *docking* molekuler, farmakokinetik, toksisitas

ABSTRACT

A plant that can be used as a natural anticancer is Malayan cherry tree. Research shows that Malayan cherry leaves are used as antioxidants, anticancer, anti-inflammatory, and anti-bacterial. This study aims to determine the best compounds that can bind to the best targets for colorectal cancer and predict the pharmacokinetic profile and the toxicity profile of the Malayan cherry leaf metabolites. The macromolecules used were molecular targets for colorectal cancer obtained based on the initial screening using SwissPred, SuperPred, and Seasearch predictions, and the ligands used were Malayan cherry leaf compounds. Proving and visualizing docking using Autodock 1.5.6. Prediction of ADME using SwissADME and prediction of toxicity using Toxtree. The results showed that the good Malayan cherry leaves compounds from the $\Delta G_{\text{binding}}$ and bonding results that occurred in EGFR were muntingone; 5-hydroxy-7-methoxyflavone; chrysin; and a promising compound on GSK-3 β is 3,5-dihydroxy-6,7-dimethoxyflavone; 7-hydroxyflavanone; 2',4'-dihydroxychalcone. The pharmacokinetic profile with ADME prediction met the Lipinski rule's criteria. The prediction of the toxicity of 19 compounds included high toxicity, compounds 2',4'-dihydroxy-3'-methoxydihydro-chalcone; muntingone; 2',4'-dihydroxychalcone; 2',4'-dihydroxy-3'-methoxychalcone showed positive for carcinogenic genotoxins and 2',4'-dihydroxy-3'-methoxydihydro-chalcone compounds; muntingone; 2',4'-dihydroxychalcone; 2',4'-dihydroxy-3'-methoxychalcone indicates a warning against mutagenesis.

Keywords: Anticancer, Malayan cherry leaves, molecular docking, pharmacokinetics, toxicity

Pendahuluan

Kanker dapat menyerang hampir semua organ tubuh ketika pertumbuhan sel tak terkendali. Penyebab kematian kedua secara global adalah kanker menurut data dari GLOBOCAN (2018) sejak 2018 telah terhitung sekitar 9,6 juta kematian dengan jumlah kasus 18,1 juta baik jenis kelamin dan semua umur. Terdapat 1,8 juta (10,2%) kasus penyakit kanker kolorektal dengan angka kematian mencapai 881 ribu (9,2%). Indonesia memiliki keanekaragaman flora yang dapat berpotensi sebagai obat tradisional, salah satunya adalah kersen (*Muntingia calabura* L.). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa kersen bermanfaat sebagai antioksidan, antikanker, antiinflamasi, dan antibakteri (Lim, 2012). Jih Jung Chen (2005) telah

melakukan uji terhadap 20 senyawa isolat dari daun kersen, yaitu: 2',4'-dihydroxy-3'-methoxydihydrochalcone (1); (-)-3'-methoxy-2'4',6-trihydroxyhydrochalcone (2); (2s)-(-)-5'-hydroxy-7,3',4'-trimethoxy flavanone (3); muntingone (4); 5-hydroxy-7-methoxyflavone (5); 3,7-dimethoxy-5-hydroxyflavone (6); 5-hydroxy-3,6,7-trimethoxyflavone (7); 6,7-dimethoxy-5-hydroxyflavone (8); 3,5-dihydroxy-7-methoxyflavone (9); 3,5-dihydroxy-6,7-dimethoxyflavone (10); 8-methoxy-3,5,7-trihydroxyflavone (11); 5,7-dihydroxy-3,8-dimethoxyflavone (12); galangin (13); chrysin (14); 7-hydroxyflavanone (15); 7-hydroxy-8-methoxyflavanone (16); 4'-hydroxy-7-methoxyflavanone (17); 2',4'-dihydroxychalcone (18); 2',4'-

dihydroxy-3'-methoxychalcone (19);
2',4'-dihydroxydihydrochalcone (20).

Target yang digunakan dalam penelitian ini adalah target molekuler kanker kolorektal berdasarkan skrining awal menggunakan prediksi *SwissPred*, *SuperPred* dan *Seasearch*, yaitu Cyclin D1, *Transcription factor 4 (TCF4)*, *Epidermal growth factor reseptor (EGFR)*, *Glycogen synthase kinase-3 β* (GSK-3 β), P53. Cyclin D1 merupakan regulator perkembangan dari siklus sel dan berfungsi sebagai transkripsi co-regulator. *Transcription factor 4 (TCF4)* adalah reseptor hormon yang dapat mempengaruhi Wnt kanonik berinteraksi dengan *b-catenin*. Pada kanker usus besar ada 80% kasus mutasi *Adenomatous Polyposis Coli (APC)* yang mengaktifkan *b-catenin*. TCF 4 berinteraksi secara fungsional dengan *b-catenin* di jalur pensinyalan Wnt, yang mengatur proses perkembangan. Epidermal growth factor receptor (EGFR) diekspresikan dalam kanker kanker kolorektal yang pada akhirnya menghasilkan peningkatan potensi metastasis dan neoangiogenesis. *Glycogen synthase kinase 3- β* (GSK-3 β) diekspresikan dalam jaringan dan anggota protein kinase. GSK-3 β diatur oleh fosforilasi di dua situs berbeda termasuk Ser9 dan Tyr216, fosforilasi situs Ser9 menonaktifkan GSK-3 β sedangkan fosforilasi pada Tyr216 dalam aktivasi loop meningkatkan aktivitas katalitiknya. Tumor Suppresor p53 adalah fosfoprotein terdiri dari 393 asam amino yang berada di dalam inti sel (Steele, 1992).

Studi biokemoinformatika merupakan metode pendekatan pada komputer menggunakan suatu program dengan tujuan untuk mencampur sumber informasi dan mengubah data menjadi informasi sehingga menjadi pengetahuan. Metode berbasis ligan menggunakan farmakofor hubungan struktur aktivitas kuantitatif atau metode berbasis pengetahuan seperti kemiripan obat, prediksi sifat ADMET (Adsorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi dan toksisitas) untuk mengurangi jumlah senyawa yang perlu dievaluasi dengan metode eksperimental. Molekuler *docking* memberikan kontribusi penting dalam proses penemuan obat selama bertahun-tahun. Model komputasi semakin memainkan peran antara data *in vitro* dan *in vivo* serta untuk meningkatkan kemampuan prediksi dari hasil *in vitro*. Prediksi adsorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi (ADME) dapat digunakan sebagai pemodelan farmakokinetik yang dapat menjelaskan efek samping dalam toksikologi praklinis dan juga untuk mendukung toksikologi prediktif (Tsaion et al., 2016). Prediksi profil farmakokinetik ditujukan pada sifat kimia molekul suatu senyawa, sifat farmakokinetik dan untuk melihat gambaran dari suatu interaksi suatu obat dengan reseptor dengan menggunakan *SwissADME*. Prediksi toksisitas digunakan untuk mendapatkan informasi tentang toksisitas (Djalil et al., 2012).

Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Alat pada penelitian adalah prosesor ASUS® Core i3, HDD 500GB, RAM 4GB. Bahan yang digunakan adalah target molekuler kanker kolorektal. Ligan yang digunakan adalah senyawa daun kersen, Autodock 1.5.6. Sumber data antara lain: *Protein Data Bank* (PDB), NCBI, Kegg Pathway Database, SwissTargetPrediction, SuperPred, SeaSearch dan PubChem.

Jalannya Penelitian

1. Prediksi makromolekul dengan Swiss Target Prediction diakses <http://www.swisstargetprediction.ch/>. SuperPred diakses melalui <http://prediction.charite.de/>. SeaSearch diakses <http://sea.bkslab.org/>
2. Pengunduhan dan preparasi makromolekul dengan mengunduh struktur di Protein Bank Data (RCSB PDB) selanjutnya validasi *docking* dan proses *docking* molekuler dilakukan optimasi dengan Autodock Tools.
3. Prediksi parameter ADME menggunakan SwissADME dengan situs <http://www.swissadme.ch>.
4. Prediksi profil toksisitas dijalankan dengan menggunakan *Toxtree*.

Analisis Data

Analisis data dilakukan dengan nilai skoring. Validasi ligan asli untuk mencari konformasi ligan. Hasil nilai ikatan diperoleh dengan cara membandingkan protein terhadap setiap senyawa.

Hasil dan Pembahasan

Prediksi Makromolekul

Hasil dari Swiss Target Prediction, SuperPred dan Seasearch di dapatkan lima target kanker kolorektal yaitu *Cyclin D1*, TCF4, EGFR, GSK-3 β dan p53 (**Tabel 1**).

Preparasi Ligan Uji

Ligan yang digunakan adalah dua puluh senyawa daun kersen dengan kontrol positif mithramycin dan kontrol negatif kafein.

Preparasi Struktur Tiga Dimensi Makromolekul

Penelitian ini menggunakan makromolekul 2W96 untuk *Cyclin D1*, 6OD4 untuk TCF4, 1M17 untuk EGFR, 1Q5K untuk GSK-3 β , 1YCR untuk P53 (**Tabel 1**).

Validasi Metode

Validasi makromolekul diujikan dengan ligan aslinya (**Tabel 2**)

Hasil Docking Molekuler

Hasil diperoleh data bahwa nilai $\Delta G_{binding}$ -0,8 kkal/mol sampai dengan -9,4 kkal/mol. Pada target 1m17 dan 1q5k memiliki nilai $\Delta G_{binding}$ terbaik terhadap senyawa dari daun kersen.

Analisa dan Visualisasi Hasil Docking

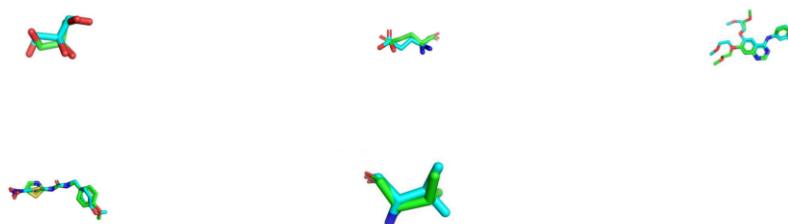
Nilai $\Delta G_{binding}$ dan pose ligan dilihat sebagai hasil dari docking molekuler. Berdasarkan hasil 1m17 dan 1q5k adalah protein target yang memiliki nilai $\Delta G_{binding}$ terbaik terhadap senyawa uji.

Tabel 1. Informasi makromolekul

Makromolekul	Parameter			
	PDB ID	Organisme	Metode	Resolusi
Cyclin D1	2W96	<i>Spodoptera frugiperda</i>	X-Ray Diffraction	2.30 Å
TCF4	6OD4	<i>Escherichia coli</i>	X-Ray Diffraction	1.70 Å
EGFR	1M17	<i>Spodoptera frugiperda</i>	X-Ray Diffraction	2.60 Å
GSK-3β	1Q5K	<i>Trichoplusia ni</i>	X-Ray Diffraction	1.94 Å
P53	1YCR	<i>Escherichia coli</i>	X-Ray Diffraction	2.60 Å

Tabel 2. Hasil RMSD

Makromolekul	PDB ID	Mean RMSD (Å)	SD
Cyclin D1	2w96	0,922	0,0566
TCF4	6od4	0,828	0,2365
EGFR	1m17	0,790	0,4027
GSK-3β	1q5k	1,035	0,2583
P53	1ycr	0,821	0,5145



Gambar 1. Hasil *overlay* ligan *redocked* dan ligan kristalografi (hijau) kristalografi (biru) *redocking*

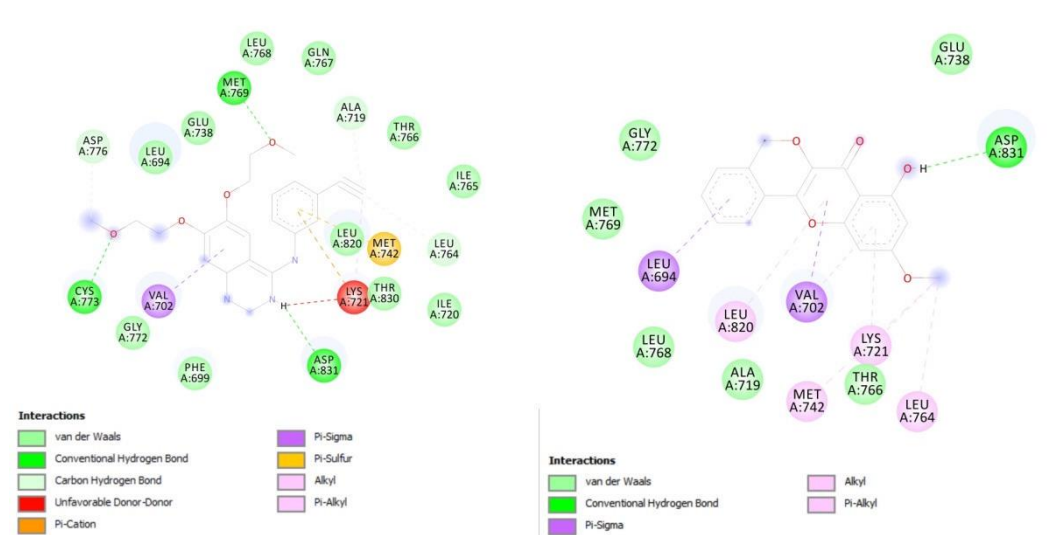
EGFR adalah reseptor tirosin kinase yang diregulasi pada kanker kolorektal. Mekanisme EGFR adalah mutasi dan pemotongan ekstraseluler domain seperti domain kinase seperti L858R dan mutasi T790M atau pemotongan ekson 19. Jalur ini kemudian mengaktifkan banyak keluaran biologis yang bermanfaat bagi sel kanker proliferasi termasuk iniasiasi dan perkembangan kronis melalui siklus sel. EGFR berada di kromosom 7 lengan

pendek q22, mencangkup 110 pb DNA yang dibagi menjadi 28 ekson (Tsiambas, 2017). Pada **Tabel 3** terdapat tiga senyawa terbaik yang memiliki nilai $\Delta G_{binding}$ tertinggi, replikasi dilakukan sebanyak tiga kali dan adanya interaksi dari residu asam amino pada ligan reseptor. Melalui ikatan hidrogen kontrol positif mithramycin berinteraksi terhadap residu binding site berikatan dengan Met769, Asp831 dan Cys773 melalui ikatan hidrogen.

Tabel 3. Hasil docking molekuler terhadap protein EGFR

Senyawa	$\Delta G_{binding}$ (kcal/mol) Mean \pm SD	Residu asam amino	
		Ikatan Hidrogen	Non ikatan hidrogen
Ligan asli	-8,7 \pm 0,152752523	Asp831, Cys773, Met769,	Ala719, Asp776, Gln767, Glu738, Gly772, Ile720, Ile765, Leu694, Leu764, Leu768, Leu820, Lys721, Met742, Phe699, Thr766, Thr830, Val702
Senyawa 4	-9,4 \pm 0,1	Asp831	Ala719, Glu738, Gly772, Leu694, Leu764, Leu768, Leu820, Lys721, Met742, Met769, Thr766, Val702
Senyawa 5	-8,1 \pm 0	Lys721	Ala719, Asp831, Gly772, Leu694, Leu764, Leu820, Met769, Met742, Thr766, Val720
Senyawa 14	-8,5 \pm 0,11547005	Asp831	Ala719, Cys773, Glu738, Gly772, Ile720, Leu820, Lys721, Met742, Thr766, Thr830, Val702
Kontrol negative	-5,5 \pm 0,15275252	Asp831, Met769	Ala719, Gln767, Glu738, Gly695, Gly772, Ile720, Ile765, Leu694, Leu764, Leu768, Leu820, Lys721, Met742, Phe699, Thr766, Thr830.

Cetak tebal: kesamaan asam amino yang berinteraksi



Gambar 2. Interaksi senyawa 4 (kanan) terhadap ligan asli (kiri) lingkaran merah menunjukkan kesamaan asam amino

Senyawa 4 (Muntingone) memiliki skor docking tertinggi pada EGFR yaitu -9,4 kkal/mol. Dilihat dari hasil $\Delta G_{binding}$ yang terlampir pada **Tabel 3**. Senyawa 4 pada target protein EGFR menempati peringat ke-1. Ikatan hydrogen terdapat pada senyawa 4 yaitu Asp831. Protein Asp berfungsi sebagai pembangkit neurotransmitter di otak dan

saraf otot. Berdasarkan penelitian (Majhi *et al.*, 2018) interaksi senyawa protein EGFR terdapat residu Asp22 mewakili interaksi ikatan hydrogen juga menunjukkan interaksi Van der Waals dengan residu Gly18, His23, Pro79, Leu27, Thr10, Gln8, Arg29, His79.

GSK-3 β memediasi jalur sinyal sebagai target terapi kanker kolorektal

dan mengatur pensinyalan dalam sel normal, aktivitasnya dikendalikan oleh fosforilasi diferensial residu serin 9 dan residu tirosin 216. Aktivitas diatur oleh fosforilasi dengan kinase yang membutuhkan fosforilasi di tirosin (Tyr216), fosforilasi di serin (Ser9) menghambat aktivitas GSK-3 β yang memediasi sintesis asam lemak intraseluler untuk mengontrol EMT dalam Toll-like receptor-4 (TLR4). Keterlibatan TLR4 dengan lipopolysaccharide (LPS) dalam sel kanker kolorektal mendorong induksi fosforilasi GSK-3 β dan enzim lipogenik terkait ekspresi DC74 yang menghambat makrofag faktor (MIF). Aktivasi GSK-3 β diinduksi oleh pemicu TLR4 migrasi dan invasi sel kanker kolorektal melalui regulasi sintesis lipid dan CD74/CD44 (Park, 2009)

Sebagai ligan asli mithramycin berinteraksi dan berikatan dengan Val135, Pro136 melalui ikatan hidrogen. Penelitian yang dilakukan oleh Kalaiselvi *et al.*, (2019) mendapatkan interaksi Arg474, Arg469, Arg515, Arg612, Asb516, Glu571, Lys508 dan Ser473. Senyawa 10 (3,5-Dihydroxy-6,7-dimethoxyflavone) memiliki skor -8,1 kkal/mol. Dilihat dari hasil $\Delta G_{binding}$ yang terlampir pada **Tabel 4**. Antara ligan dan senyawa 10 memiliki 3 kesamaan asam amino Thr138 dan Val110 melalui ikatan van der Waals dan Ile62 melalui ikatan Phi. Terdapat ikatan hidrogen pada ligan asli dimana Val135 dan Pro136 berikatan dengan atom N. Senyawa 10 memiliki ikatan Phi-Alkyl pada residu Cys199, Val70 dan Leu188.

Prediksi ADME

Penggambaran senyawa melewati *blood brain barrier* bisa menggunakan SwissADME yang berperan sebagai *physicochemical descriptor* berkaitan dengan kemampuan memperlihatkan hasil prediksi suatu senyawa dan memberikan rangkuman analisis gambaran sederhana prediksi senyawa (Daina *et al.*,2017)

Aturan dari Lipinski's *rule of five* digunakan menentukan sifat fisikokimia ligan berdasarkan karakter hidrofilik, hidrofobik serta sifat fisiko kimia dari ligan. Ketetapan aturan Berat Molekul (BM) tidak >500 g/mL dengan nilai koefisien partisi (logP) kurang dari 5, donor ikatan H <5 dan akseptor ikatan H <10.

Berdasarkan **Tabel 5** dapat dilihat bahwa senyawa daun kersen memiliki berat molekul kurang dari 500g/mL, donor akseptor ikatan H tidak >10, donor ikatan tidak >5 dimana hal ini memenuhi kriteria dari aturan lipinski sehingga senyawa daun kersen memiliki *drug likeness* yang cukup baik. Senyawa daun kersen memiliki koefisien partisi kurang dari (log P) 5. Suatu obat dalam tubuh tidak boleh terlalu hidrofobik (logP lebih dari 5) karena dapat tertahan pada lapisan *lipid bilayer* (Lipinski, 1997).

Gastrointestinal ligan menunjukkan tingkat absorpsi yang tinggi dan pada bioavailabilitas kurang baik yaitu pada 0,55. Hasil ADME menunjukkan dari 20 senyawa daun kersen terdapat 6 senyawa tidak menembus sawar otak yaitu senyawa 2,

9, 10, 11, 12, 13. Permeabilitas glikoprotein substrat (P-gp) adalah superfamily transporter ATP binding cassette (ABC) yang menentukan penyerapan dan penembusan obat. Hasil menggunakan *SwissADME* menunjukkan bahwa senyawa 3, 15, 16 dan 17 dapat menembus P-gp karena hidrofobik sehingga di dalam gastrointertinal.

Dalam reaksi metabolisme terjadi oksidasi katalis dari enzim

sitokrom P-450 (CYP) monooksigenase dalam RE di hati. Diantaranya CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4. CYP1A2 dapat mengkatalisis semua senyawa daun kersen kecuali pada senyawa 6, karena senyawa 6 bukan inhibitor dari enzim CYP1A2.

Prediksi Toksisitas

Uji toksisitas dilakukan dengan menggunakan program *Toxtree*.

Tabel 4. Hasil docking molekuler terhadap protein GSK-3 β

Senyawa	$\Delta G_{binding}$ (kkal/mol)	Residu asam amino	
		Ikatan Hidrogen	Non ikatan hidrogen
Ligan asli	-8,5 \pm 0,152752523	Pro136, Val135	Asp133, Cys199, Glu137, Ile62, Leu132, Leu188, Lys60, Thr138, Tyr134, Val61, Val70, Val110
Senyawa 10	-8,1 \pm 0,152752523	-	Ala83, Arg141, Asn186, Asp200, Cys199, Gln185, Ile62, Leu132, Leu188, Lys85, Thr138, Tyr140, Tyr134, Val70, Val110
Senyawa 15	-9,0 \pm 0,15275252	-	Ala83, Asp133, Asp200, Cys199, Gly65, Ile62, Leu132, Leu188, Lys85, Tyr134, Val70, Val110, Ala83, Arg141, Asp200, Cys199, Ile62, Leu132, Leu188, Lys85, Thr138, Tyr134, Val70, Val110
Senyawa 18	-8,2 \pm 0,152752523	Val135, Asp133	Ala83, Arg141, Asp200, Cys199, Ile62, Leu132, Leu188, Lys85, Thr138, Tyr134, Val70, Val110
Kontrol negatif	-5,5 \pm 0,28867513	Val135, Pro136	Ala83, Asp133, Cys199, Gln72, Glu137, Ile62, Leu188, Leu132, Lys60, Tyr134, Thr138, Val61,

Cetak tebal : kesamaan asam amino yang berinteraksi



Gambar 3. Interaksi senyawa 10 (kanan) dibandingkan ligan asli (kiri) lingkaran merah menunjukkan kesamaan asam amino

Tabel 5. Lipinski rules senyawa daun kersen (<http://www.swissadme.ch/>)

Ligan	Formula	Bobot Molekul (g/mol)	H-Bond acceptors	H-bond donors	Log P	Kelarutan dalam air
Molekul 1	C ₁₆ H ₁₆ O ₄	272.30	4	2	2.53	Larut
Molekul 2	C ₁₆ H ₁₆ O ₅	288.30	5	4	2.28	Larut
Molekul 3	C ₁₈ H ₁₈ O ₆	330.33	6	1	3.02	Larut
Molekul 4	C ₁₇ H ₁₂ O ₅	296.27	5	1	2.87	Cukup larut
Molekul 5	C ₁₆ H ₁₂ O ₄	268.26	4	1	2.88	Cukup larut
Molekul 6	C ₁₇ H ₁₆ O ₅	300.31	5	1	2.95	Larut
Molekul 7	C ₁₈ H ₁₆ O ₆	328.32	6	1	3.15	Cukup larut
Molekul 8	C ₁₇ H ₁₆ O ₆	316.31	6	2	2.92	Cukup larut
Molekul 9	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	284.26	5	2	2.68	Larut
Molekul 10	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314.29	6	2	2.82	Cukup larut
Molekul 11	C ₁₆ H ₁₂ O ₆	300.26	6	3	2.32	Larut
Molekul 12	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314.29	6	2	2.72	Cukup larut
Molekul 13	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	270.24	5	3	2.08	Larut
Molekul 14	C ₁₅ H ₁₀ O ₄	252.24	4	2	2.27	Cukup larut
Molekul 15	C ₁₅ H ₁₂ O ₃	240.25	3	1	2.06	Larut
Molekul 16	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	270.28	4	1	2.45	Larut
Molekul 17	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	270.28	4	1	2.31	Larut
Molekul 18	C ₁₅ H ₁₂ O ₃	240.25	3	2	2.23	Larut
Molekul 19	C ₁₆ H ₁₄ O ₄	270.28	4	2	2.78	Larut
Molekul 20	C ₁₅ H ₁₄ O ₃	242.27	4	3	1.89	Larut

Hasil dari parameter *Cramer rules* dari 20 senyawa daun kersen yang diujikan 19 diantaranya termasuk dalam kategori tiga yaitu toksisitas tinggi (*High Class*) menunjukkan senyawa dianggap tidak terjamin keamanannya atau kemungkinan terjadi toksisitas tinggi. Kelas III adalah zat dengan struktur kimia yang tidak memberikan kesan awal yang kuat terhadap keamanan dan bahkan mungkin menunjukkan toksisitas yang signifikan (Patlewicz *et al.*, 2008).

Carcinogenicity and *mutagenicity* saling berhubungan satu sama lain. Rusaknya materi genetik oleh zat mutagen terjadi pada sel gamet sehingga masalah penyakit dapat diwariskan kepada turunannya (Lee *et al.*, 2014). Hasil dari parameter ini menunjukkan bahwa senyawa 1, 4, 18

dan 19 menunjukkan positif genotoksik karsinogenik. Hasil dari uji parameter *mutagenicity rulebase by ISS* dan *In vitro mutagenicity (Ames test) alerts by ISS*, menunjukkan bahwa pada 1, 4, 18 dan 19 menunjukkan adanya peringatan terhadap mutagenesis *S. Typhimurium*.

Kesimpulan

Senyawa daun kersen terbaik dari hasil $\Delta G_{binding}$ dan ikatan yang terjadi pada EGFR adalah senyawa *muntingone*. Profil farmakokinetik dengan prediksi ADME senyawa daun kersen memenuhi kriteria aturan Lipinski. Prediksi toksisitas senyawa dari parameter *Cramer rules* dari 20 senyawa daun kersen yang diujikan 19 diantaranya termasuk dalam kategori tiga yaitu toksisitas tinggi (*high class*).

Tabel 6. Nilai parameter farmakokinetik senyawa daun kersen (<http://www.swissadme.ch/>)

<i>Ligan</i>	<i>GI absorption</i>	<i>BBB permeant</i>	<i>P-gp substrate</i>	<i>CYP1A2 inhibitor</i>	<i>CYP2C19 inhibitor</i>	<i>CYP2C9 inhibitor</i>	<i>CYP2D6 inhibitor</i>	<i>CYP3A4 inhibitor</i>	<i>Bioavailability score</i>
Molekul 1	High	Yes	No	Yes	No	Yes	No	No	0.55
Molekul 2	High	No	No	yes	No	No	No	yes	0.55
Molekul 3	High	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	0.55
Molekul 4	High	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	Yes	0.55
Molekul 5	High	Yes	No	Yes	Yes	yes	yes	Yes	0.55
Molekul 6	High	Yes	No	No	Yes	No	Yes	Yes	0.55
Molekul 7	High	Yes	No	Yes	No	Yes	Yes	Yes	0.55
Molekul 8	High	Yes	No	yes	No	Yes	Yes	Yes	0.55
Molekul 9	High	No	No	Yes	No	No	Yes	Yes	0.55
Molekul 10	High	No	No	Yes	No	Yes	Yes	Yes	0.55
Molekul 11	High	No	No	Yes	No	No	Yes	Yes	0.55
Molekul 12	High	No	No	Yes	No	Yes	Yes	Yes	0.55
Molekul 13	High	No	No	Yes	No	No	Yes	Yes	0.55
Molekul 14	High	Yes	No	Yes	No	No	Yes	Yes	0.55
Molekul 15	High	Yes	Yes	Yes	No	No	No	No	0.55
Molekul 16	High	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	Yes	0.55
Molekul 17	High	Yes	Yes	Yes	Yes	No	No	Yes	0.55
Molekul 18	High	Yes	No	Yes	No	Yes	No	Yes	0.55
Molekul 19	High	Yes	No	Yes	Yes	Yes	No	Yes	0.55
Molekul 20	High	Yes	No	Yes	No	No	No	No	0.55

GI absorption: penyerapan gastrointestinal; *BBB permeant*: sawar otak darah; *P-gp*: permeabilitas glikoprotein substrat.

Tabel 4. Hasil prediksi toksisitas

Ligan	Parameter		
	<i>Cramer rules</i>	<i>Carcinogenicity and mutagenicity</i>	<i>In vitro mutagenicity</i>
Senyawa 1	Intermediate (Class II)	Structural Alert for genotoxic carcinogenicity Negative for nongenotoxic carcinogenicity	Structural Alert for S. typhimurium mutagenicity
Senyawa 2	High (Class III)	Negative for genotoxic carcinogenicity Negative for nongenotoxic carcinogenicity	No alerts fot S. Typhimurium mutagenicity
Senyawa 3	High (Class III)	Negative for genotoxic carcinogenicity Negative for nongenotoxic carcinogenicity	No alerts fot S. Typhimurium mutagenicity
Senyawa 4	High (Class III)	Structural Alert for genotoxic carcinogenicity Negative for nongenotoxic carcinogenicity	Structural Alert for S. typhimurium mutagenicity
Senyawa 5	High (Class III)	Negative for genotoxic carcinogenicity Negative for nongenotoxic carcinogenicity	No alerts fot S. Typhimurium mutagenicity
Senyawa 6	High (Class III)	Negative for genotoxic carcinogenicity Negative for nongenotoxic carcinogenicity	No alerts fot S. Typhimurium mutagenicity
Senyawa 7	High (Class III)	Negative for genotoxic carcinogenicity Negative for nongenotoxic carcinogenicity	No alerts fot S. Typhimurium mutagenicity
Senyawa 8	High (Class III)	Negative for genotoxic carcinogenicity Negative for nongenotoxic carcinogenicity	No alerts fot S. Typhimurium mutagenicity
Senyawa 9	High (Class III)	Negative for genotoxic carcinogenicity Negative for nongenotoxic carcinogenicity	No alerts fot S. Typhimurium mutagenicity
Senyawa 10	High (Class III)	Negative for genotoxic carcinogenicity Negative for nongenotoxic carcinogenicity	No alerts fot S. Typhimurium mutagenicity
Senyawa 11	High (Class III)	Negative for genotoxic carcinogenicity Negative for nongenotoxic carcinogenicity	No alerts fot S. Typhimurium mutagenicity
Senyawa 12	High (Class III)	Negative for genotoxic carcinogenicity Negative for nongenotoxic carcinogenicity	No alerts fot S. Typhimurium mutagenicity
Senyawa 13	High (Class III)	Negative for genotoxic carcinogenicity Negative for nongenotoxic carcinogenicity	No alerts fot S. Typhimurium mutagenicity
Senyawa 14	High (Class III)	Negative for genotoxic carcinogenicity Negative for nongenotoxic carcinogenicity	No alerts fot S. Typhimurium mutagenicity
Senyawa 15	High (Class III)	Negative for genotoxic carcinogenicity Negative for nongenotoxic carcinogenicity	No alerts fot S. Typhimurium mutagenicity
Senyawa 16	High (Class III)	Negative for genotoxic carcinogenicity Negative for nongenotoxic carcinogenicity	No alerts fot S. Typhimurium mutagenicity
Senyawa 17	High (Class III)	Negative for genotoxic carcinogenicity Negative for nongenotoxic carcinogenicity	No alerts fot S. Typhimurium mutagenicity
Senyawa 18	High (Class III)	Structural Alert for genotoxic carcinogenicity Negative for nongenotoxic carcinogenicity	Structural Alert for S. typhimurium mutagenicity
Senyawa 19	High (Class III)	Structural Alert for genotoxic carcinogenicity Negative for nongenotoxic carcinogenicity	Structural Alert for S. typhimurium mutagenicity
Senyawa 20	High (Class III)	Negative for genotoxic carcinogenicity Negative for nongenotoxic carcinogenicity	No alerts fot S. Typhimurium

Daftar Pustaka

Daina, A., Michielin, O., Zoete, V. 2017. SwissADME: A free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-

likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. Sci. Rep. 7(3):1–13.

- Djalil, A. D., Kartasasmita, R. E., Ibrahim, S., Tjahjono, D. H. 2012. Toxicity prediction of photosensitizers bearing carboxylic acid groups by ECOSAR and Toxtree. *J. Pharmacol. Toxicol.* 7(5):219–230.
- Tsiambas, E., Mastronikolis, N.S., Lefas, A.Y. 2017. Chromosome 7 multiplication in EGFR-positive lung carcinomas based on tissue microarray analysis. *In Vivo.* 22(1):278-279
- Jih-Jung Chen, Hsinn-Hsing Lee, Chang-Yih Duh, Ih-Sheng Chen. 2005. Cytotoxic chalcones and flavonoids from the leaves of *Muntingia calabura*. *Planta Med.* 71(10):970-3.
- Kalaiselvi, L., Sriram, P., Preetha, S. P., Parthiban, M., & Kannan, T. A. 2019. In silico docking analysis of bioactive compounds from *Stoechespermum marginatum* against colorectal cancer. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.*, 8(05):1347–1358.
- Lee, H. W., Wang, H. T., Weng, M. wen, Hu, Y., Chen, W. S., Chou, D., Liu, Y., Donin, N., Huang, W. C., Lepor, H., Wu, X. R., Wang, H., Beland, F. A., & Tang, M. S. 2014. Acrolein- and 4-Aminobiphenyl-DNA adducts in human bladder mucosa and tumor tissue and their mutagenicity in human urothelial cells. *Oncotarget* 5(11):3526–3540.
- Lipinski, C, Lombardo, F., Dominy, B.W., Feeney, P.J. 1997. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 23:3-25.
- Majhi, M., Ali, M. A., Limaye, A., Sinha, K., Bairagi, P., Chouksey, M., Shukla, R., Kanwar, N., Hussain, T., Nayarisseri, A., & Singh, S. K. 2018. An in-silico investigation of potential EGFR inhibitors for the clinical treatment of colorectal cancer. *Curr. Top. Med. Chem.* 18(27), 2355–2366.
- Park HJ, Kim HJ, Bae GS, Seo SW, Kim DY, Jung WS, et al. 2009. Selective GSK-3 beta inhibitors attenuate the cisplatin-induced cytotoxicity of auditory cells. *Hear Res.* 257(1-2):53-62.
- Patlewicz, G., Jeliaskova, N., Safford, R. J., Worth, A. P., & Aleksiev, B. 2008. An evaluation of the implementation of the Cramer classification scheme in the Toxtree software. *SAR QSAR Environ. Res.* 19(5–6):495–524.
- Steele, C., Sacks, P.G., Alder-Storthz, K., Shillitoe, E.J. 1992. Effect on cancer cells of plasmids that express antisense RNA of human papillomavirus type 18, *Cancer Res.* 5(2):4706-4711.
- Tsaioun, K., Blaauboer, B. J., & Hartung, T. 2016. Evidence-based absorption, distribution, metabolism, excretion (ADME) and its interplay with alternative toxicity methods. *Altex* 33(4):343–358.