Journal of Applied Science for Pharmaceuticals and Health, 1(2) 2024, page 50-62
https://doi.org/10.20884/1.jasph.2024.1.2.14999

Analisis Target Protein Pada Penyakit Kanker Serviks dari Senyawa Ethyl Para Methoxy Cinnamate Secara *In silico*

Ayunda Tasya Hapsari*, Muhamad Salman Fareza, Nur Amalia Choironi
Jurusan Farmasi, Fakultas Ilmu-Ilmu Kesehatan, Universitas Jenderal Soedirman
**Corresponding Author e-mail: ayundatasyaa@gmail.com*

Received: 9 Febuari 2025 | Revised: 26 Mei 2025 | Accepted: 19 Juni 2025

ABSTRAK

Kasus kanker serviks merupakan kanker tertinggi ke-5 diantara kanker lainnya di dunia. Amplifikasi DNA adalah salah satu mekanisme terjadinya kanker ini. Karena itu, keparahan penyakit ini bisa berkembang. Gena yang berperan dalam perkembangan kanker serviks adalah CCNB1, CCNB2, CDK, dan MMP. Terdapat masalah pada beberapa obat yang menargetkan beberapa protein tersebut seperti erlotinib, alvocidib, marimastat, dan lain-lain. Oleh karena itu, penemuan obat baru untuk mengatasi kasus ini perlu dilakukan. Senyawa *Ethyl Para Methoxy Cinnamate* (EPMC) mempunyai aktivitas sitotoksik IC_{50} sebesar 35 µg/ml yang bersifat sangat sitotoksik terhadap sel HeLa. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi target dan profil *docking* molekul senyawa EPMC yang berpotensi menghambat kanker serviks. Pencarian data menggunakan *data base* Pubchem, SWISS *Target Prediction*, PubMed, STRING, dan PDB. Situs Webgestalt dilakukan untuk analisis *Geneontologi*, jalur KEGG, dan asosiasi obat. Hasil *Potential Target Theurapetic Genes* (PTTGs) digunakan untuk melihat interaksi antara protein menggunakan STRING dan *top 10* gena teratas dengan cystoscape. Simulasi *docking* dilakukan untuk mengetahui profil penambatan. Hasil: Target potensial EPMC adalah EGFR, CCND1, CDK4, CDK2, CCNA1, HGF, MMP9, CCNE1, CCNB1, CDH1. Hasil simulasi *docking* menunjukkan MMP9 memiliki energi ikatan yang hampir sama dibandingkan kontrol positif (marimastat), yaitu sekitar -6,9 kkal/mol, EPMC memiliki lebih banyak jenis ikatan daripada marimastat. Oleh karena itu, MMP9 berpotensi menjadi target EPMC melalui jalur persinyalan PI3K-Akt. Kesimpulan: Senyawa EPMC berpotensi menghambat pertumbuhan sel kanker dengan menargetkan MMP9 melalui jalur pensinyalan PI3K-Akt.

Kata Kunci: Kanker serviks, EPMC, *In silico*.

PENDAHULUAN

Kanker serviks merupakan kanker tertinggi ke-5 di dunia. Menurut data *Global Cancer Observatory* (2022), tercatat sebanyak 36.964 (16,8%) kasus baru kanker serviks di Indonesia sebagai posisi ke-3 setelah kanker paru-paru dan payudara. Laporan Kementerian Kesehatan pada 31 Januari 2019, kejadian kanker serviks sebesar 23,4 per 100.000 penduduk, dan rata-rata angka kematian 13,9 per 100.000 penduduk (Kemenkes RI, 2019). Kanker serviks dapat terjadi salah satunya karena adanya mekanisme amplifikasi DNA dimana gena yang penting dalam perkembangan kanker diaktifkan (Iida, 2011). Terdapat beberapa gena yang berperan dalam kanker serviks seperti UBE2C, CCNB1, CCNB2, PLOD2, NUP210, Melk, CDC20 (Rajkumar et al., 2011). Selain itu EGFR, CyclinA, CDK2, dan MMPs diketahui memiliki ekspresi berlebih pada kanker serviks stadium lanjut yang merupakan penanda prognostik yang buruk pada kanker serviks (Gao et al., 2020; Chen et al., 2020; Chen et al., 2021). Namun, terdapat permasalahan dalam beberapa obat yang menargetkan beberapa protein tersebut

Seperti erlotinib yang merupakan inhibitor tirosin kinase EGFR generasi pertama diketahui memiliki resistensi karena adanya mutasi pada asam amino T90M. Mutasi ini mengubah afinitas EGFR ke ATP, menjadikan ATP sebagai substrat yang disukai dibandingkan dengan EGFR-TKI yang bersaing dengan ATP dan mengakibatkan lemahnya pengikatan EGFR (Morgillo *et al.*, 2016). Selain itu, marimastat yang merupakan inhibitor MMP mengalami kegagalan dalam uji klinis karena tidak memiliki efek terapeutik (Laronha *et al*., 2020). Flavopiridol merupakan inhibitor *Cyclin Dependent Kinase* (CDK) yang dapat menyebabkan resistensi obat karena adanya induksi autofagi (Xiao *et al*., 2015). Oleh karena itu, hingga saat ini pencarian senyawa baru yang menargetkan protein tersebut masih dilakukan (Prasetiawati et al., 2021). Salah satunya bersumber dari bahan alam seperti *Ethyl Para Methoxy Cinnamate* (EPMC) dalam *K. galanga* yang berpotensi untuk diteliti terkait protein-protein yang terlibat pada kanker serviks.

Senyawa EPMC merupakan salah satu senyawa yang memiliki potensi sebagai agen *angiogenesis inhibitors* dengan menghambat tirosin kinase (Ekowati, Hardjono and Hamid, 2016). Sejauh ini, sejumlah penelitian telah melaporkan bahwa EPMC pada *K. galanga* memiliki aktivitas antikanker secara *in vitro* pada berbagai lini sel kanker. Studi *in vitro* yang dilakukan oleh Kosuge et al (1985) ekstrak rimpang *K. galanga* mengandung EPMC yang menunjukkan aktivitas sitotoksik IC_{50} sebesar 35 µg/ml yang sangat sitotoksik terhadap sel HeLa. Potensi EPMC dengan menargetkan protein yang terlibat pada kanker serviks dapat diprediksi salah satunya dengan menggunakan metode *in silico*. Metode *in silico* diawali dengan studi bioinformatika dan dilanjutkan *molecular docking*.

Bioinformatika berperan penting untuk melihat hubungan kompleks antara senyawa obat, target molekuler, dan penyakit yang menjadi sasaran terapi (Lagunin et al., 2014). Penggunaan *molecular docking* dapat membantu sebuah senyawa untuk memahami dan memprediksi interaksi ligan-protein, baik mencari mode ikatan yang baik secara struktur maupun memprediksi afinitas ikatan berdasarkan energi (Suherman, Prasetiawati and Ramdani, 2020). Hingga kini belum ada penelitian yang melaporkan kajian bioinformatika EPMC secara *in silico* terhadap protein yang terlibat dalam kanker serviks. Oleh karena itu, diperlukan adanya penelitian untuk mengidentifikasi target protein serta melihat interaksi pada kompleks antara senyawa EPMC pada kanker serviks dengan menggunakan metode bioinformatika *dan molecular docking*.

ALAT, BAHAN, DAN METODE

ALAT DAN BAHAN

Alat yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari perangkat keras berupa seperangkat laptop/PC dengan spesifikasi berupa *Operating System* (OS) *Windows 10 Education* 64-bit (10.0, Build 19044) dengan *processor* Intel ® Core ™ i5-7200U CPU. *Software* yang digunakan yaitu *Cystoscape, Chem&Draw, Avogadro, Autodock Vina, Autodock Tools, PyMOL, BIOVIA Discovery Studio*, serta

domain website yang digunakan yaitu PubChem (https:// pubchem.ncbi.nlm.nih.gov), NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/), Venny 2.1 (https: //bioinfogp. cnb. csic. es/tools/venny/), SWISS (http://www. Swisstargetprediction .ch/), STRING-DB v11.0 (https:// string-db .org) WebGestalt (http://www.webgestalt.org/) dan Protein Data Bank (https://www.rcsb.org/). Bahan penelitian yang digunakan adalah struktur senyawa EPMC yang diperoleh dari PubChem (https://pubchem.ncbi. nlm.nih.gov/) dan protein target dari *database National Center for Biotechnological Information* (NCBI) (https://www.Ncbi.nlm.nih.gov/gene).

METODE

Pencarian Gena Target

Gena regulator sel kanker dicari menggunakan *database* PubMed (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/) dengan memasukkan kata kunci "*cervical cancer*" pada menu pencarian. Hasil data yang didapatkan kemudian diatur ke pencarian organisme *Homo sapiens* (Han et al., 2021).

Pencarian *Direct Target Protein* (DTP) dan *Indirect Target Protein* (ITP) senyawa aktif

Pencarian DTP dan ITP diawali dengan mencari *Simplifed Molecular Input Line Entry Specification* (SMILES) yang diperoleh dari situs web Pubchem (https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/). Struktur SMILES digunakan untuk memprediksi target potensial yang diimpor ke database *SWISS Target Prediction* (http://www.swisstargetprediction.ch/) (Han et al., 2021).

Pencarian *Potential Target Theurapetic Genes* (PTTGs)

Pencarian PTTGs dilakukan dengan menggunakan *website* Venny 2.1 (https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/) untuk mendapatkan gena tumpang tindih antara dua dataset (Wei, Bai and Dong, 2022).

Analisis *Gene ontology*

Analisis *Gene ontology* dilakukan menggunakan WebGestalt (http://www.webgestalt.org/) oleh organisme *Homo sapiens* dengan menggunakan metode *Over-Representation Analysis* (ORA). Pada kolom *functional database, Gene ontology* yang dipilih yaitu *Biological Processes, Cellular Components,* dan *Molecular Function* (Wang et al., 2017).

Analisis KEGG *Pathway*

Analisis KEGG *Pathway* dilakukan menggunakan WebGestalt (http://www.webgestalt.org/) oleh organisme *Homo sapiens* dengan menggunakan metode *Over-Representation Analysis* (ORA). Pada kolom *functional database* pilih jalur KEGG (Wang et al., 2017).

Analisis *Drug Assocation*

Analisis *Drug Association* dilakukan menggunakan *Over-Representation Analysis* (ORA) dari *website* WebGestalt (http://www.webgestalt.org/) (Wang et al., 2017).

Pencarian *Protein-Protein Interaction*

Protein-protein yang sudah diprediksi menjadi target senyawa aktif dilakukan analisis interaksi antar protein menggunakan website STRING db (https://string-db.org). Hasil akan menunjukkan interaksi antar target protein dan disimpan sebagai file format TSV (Han et al., 2021)

Pencarian *Top 10 Genes*

Pencarian *Top 10 Genes* dihasilkan dengan menganalisis hasil pencarian *protein-protein interaction* yang didapatkan menggunakan *software Cytoscape* (Han et al., 2021).

Analisis Bioinformatika

Hasil pencarian gena target yang didapatkan dari *database* NCBI berupa gena regulator sel kanker. Hasil data dari pencarian gena target, DTP, dan ITP dicari menggunakan Venny 2.1 yang akan menghasilkan irisan antara gena regulator sel kanker dengan gena target (DTP dan ITP). Hasil pada *gene ontology* dikategorikan ke dalam proses biologis, komponen seluler, dan fungsi molekuler yang nantinya dianalisis terkait keterlibatan gena. Analisis KEGG *Pathway* berupa grafik batang rasio pengayaan yang menunjukkan beberapa jalur yang terkait. Analisis *Drug Assocation* akan menghasilkan 10 obat yang memiliki aktivitas sebagai antikanker. Protein-protein yang sudah diprediksi menjadi target senyawa aktif dilakukan analisis interaksi antar protein yang menunjukkan adanya ikatan antar protein. Hasil analisis PPI digunakan untuk mencari sepuluh protein dengan interaksi tertinggi yang merupakan target paling potensial sebagai target aksi obat terhadap kanker serviks.

Molecular docking

Preparasi Reseptor

Pencarian reseptor dapat diunduh melalui *website Protein Data Bank* (https://www.rcsb.org/). Preparasi reseptor dilakukan menggunakan *software Autodock Tools* dengan memisahkan reseptor yang berupa makromolekul protein dengan molekul lain yang tidak diperlukan beserta ligannya, kemudian ditambahkan atom hidrogen serta *Compute Gasteiger* (Sari, Junaidin and Pratiwi, 2020).

Validasi *Metode docking*

Validasi metode *docking* dilakukan dengan melakukan docking ulang antara ligan natif senyawa dengan reseptor yang sudah dipreparasi. Validasi metode *docking* dianalisis menggunakan program PyMOL (Sari, Junaidin and Pratiwi, 2020).

Preparasi Ligan

Senyawa uji EPMC dan kontrol positif (erlotinib, alvocidib, marimastat) didapatkan dari *website* Pubchem. Ligan natif dari masing masing protein EGFR (TAK285), CDK4 (Abemaciclib), CDK2 (2-[3 - (pyrimidin-4-ylamino) phenyl] ethanoic acid), dan MMP9 (N-2-(Biphenyl-4-Ylsulfonyl)-N-2-(Isopropyloxy)-Acetohydroxamic Acid) diunduh dari *Protein Data Bank.* Senyawa uji EPMC, kontrol positif, dan ligan natif dibuat struktur 3D serta dilakukan optimasi geometri mekanika molekul (MM)

memakai *software* Chem3D Pro 12.0. Setelah dioptimasi, struktur ligan disimpan dengan format PDB. *Autodock Tools* digunakan untuk melakukan preparasi pada ligan. Preparasi ligan dilakukan dengan mengoreksi menambahkan muatan Gasteiger. Ligan yang sudah dipreparasi disimpan dengan format *pdbq.

Docking Ligan Uji terhadap Reseptor

Autodock Tools digunakan untuk mengatur parameter grid box. Koordinat grid box ditentukan dari koordinat ligan *co-crystal* dari file reseptor yang digunakan saat validasi, lalu menggunakan *Autodock Vina* untuk proses penambatan.

Analisis dan Visualisasi Hasil *Docking*

Konformasi ligan hasil docking ditentukan dengan memilih konformasi dari ligan yang energi ikatannya paling rendah. *Software Discovery Studio* digunakan untuk menganalisis hasil *docking* dengan *pose* terbaik. Parameter yang dianalisis meliputi residu asam amino, ikatan hidrogen, dan energi bebas ikatan. Jenis dan jumlah ikatan yang terjadi antara senyawa dan residu asam amino yang dihasilkan dari visualisasi dapat mempengaruhi energi ikatan (Pantsar and Poso, 2018). Banyaknya ikatan hidrogen yang terjadi antara ligan dengan protein target membuat protein mengalami perubahan konformasi yang stabil (Arwansyah, 2014).

HASIL

Gena Target EPMC

Gena pengkode sel kanker serviks didapatkan sebanyak 1722. Direct Target Protein (DTP) dan Indirect Target Protein (ITP) dari senyawa EPMC sebanyak 100 DTP dan ITP. Hasil *Potential Target Theurapetic Genes* (PTTGs) didapatkan sebanyak 26 gena yang beririsan pada diagram Venn.

Analisis *Gene Ontology*

Analisis *Gene ontology* dilakukan menggunakan WebGestalt. Terdapat 3 kategori yang dicari pada gene ontology yaitu proses biologis, komponen seluler, dan fungsi molekuler. Senyawa EPMC berpatisipasi dalam 97 proses biologis, beberapa diantaranya berpengaruh pada respon seluler IL-4, regulasi kaskade JAK-STAT, dan meningkatkan regulasi MAP. Dihasilkan tiga komponen seluler yang paling terkait seperti ficolin-1-rich lumen, ficolin-1-rich granule, dan reseptor kompleks, sedangkan fungsi molekuler yang dihasilkan sebanyak 35 fungsi seperti aktivitas protein tirosin kinase, pengikatan hormon, dan pengikatan steroid.

Analisis KEGG *Pathway*

Analisis KEGG *Pathway* yang akan dihasilkan berupa berbagai jalur persinyalan EPMC yang menunjukan *pathway* paling terkait dengan antikanker serviks. Terdapat 38 jalur persinyalan yang dapat diregulasi oleh EPMC dan dipilih 8 jalur persinyalan yang terkait dengan kanker serviks yaitu jalur persinyalan IL-17, jalur persinyalan GnRH, jalur persinyalan NF-kappa B, jalur persinyalan estrogen, jalur persinyalan TNF, jalur persinyalan PI3K-Akt, jalur persinyalan Rap1, dan jalur persinyalan

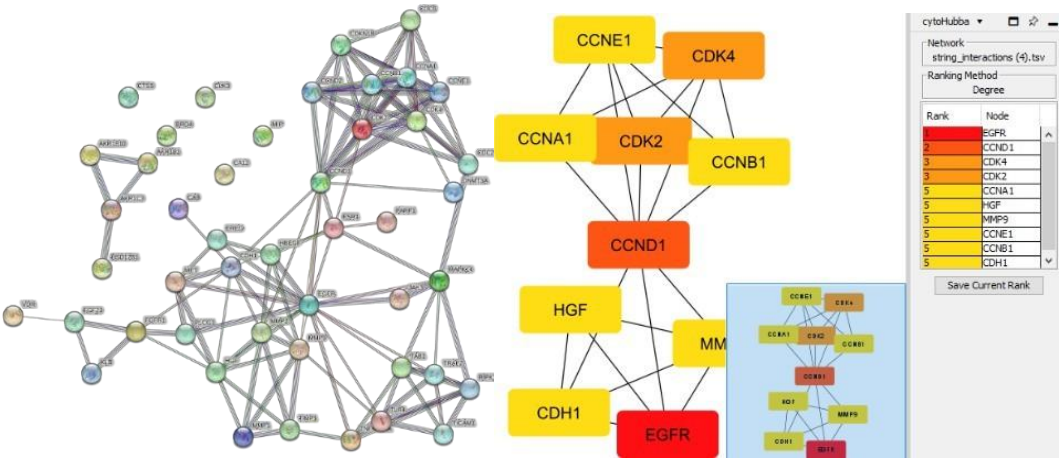
MAPK**.**

Analisis *Drug Association*

Hasil *Drug Association* menunjukkan sebanyak 44 obat memiliki target aksi yang serupa dengan EPMC. Beberapa obat yang terkait dengan kanker seperti osimertinib, saracatinib, trastuzumab, dacarbazine, temozolomide, daunorubicin, anti-estrogens, doxorubicin, dan inhibitor protein kinase**.**

Protein-Protein Interaction dan *Top 10 Genes*

Protein-Protein Interaction (PPI) dianalisis menggunakan *database* STRING dengan memasukkan kembali PTTGs yang sudah didapatkan ke dalam STRING. Analisis PPI yang dihasilkan 46 *nodes*, 118 *edges*, rata-rata *node degree* 5,13, dan PPI *enrichment p-value*: 4,44e-16 (Gambar 4.3). Top 10 gena yang dihasilkan yaitu EGFR, CCND1, CDK4, CDK2, CCNA1, HGF, MMP9, CCNE1, CCNB1, CDH1 (Gambar 1).



Gambar 1. Hasil *Protein-Protein Interaction* dan top *10 genes*

Molecular docking

Protein target yang dipilih adalah EGFR, CDK2, CDK4, dan MMP9. Preparasi protein dilakukan menggunakan *Autodock Tools*. Protein tersebut diunduh dari *website Protein Data Bank* dengan kode dan resolusi masing-masing 3POZ (1,5 Å), 7SJ3 (2,51 Å), 6Q4J (1,05 Å), 4H3X (1,764 Å). Senyawa EPMC dan protein target EGFR, CDK4, CDK2, dan MMP9 masing-masing ditambatkan dengan ligan natif serta kontrol positif seperti erlotinib, alvocidib, dan marimastat. Hasil dari penambatan tersebut berupa energi ikatan (kkal/mol) yang tertera pada Tabel 1. Visualisasi dari hasil penambatan dilakukan menggunakan BIOVIA *Discovery Studio* hasil berupa jenis ikatan dan residu asam amino yang berkaitan antara senyawa EPMC dengan protein target EGFR, CDK2, CDK4, dan MMP9.

Tabel 1. Hasil *molecular docking* EPMC terhadap beberapa target protein kanker serviks

Protein	Senyawa	Energi ikatan (kkal/mol)	Jenis ikatan	Asam amino
EGFR	Ligan natif	-10,9	Hidrogen	Lys745 Leu777 Met793 Thr854 Asn842 Gln791
			Halogen	Leu788 Met766C ys775 Arg776 Leu718 Arg776
			Hidrofobik	Leu718 Met766 Leu844 Phe856 Cys775 Lys745 Leu788 Pke856 Ala743 Leu844 Val726 Ala743 Lys745 Leu777
	EPMC	-6,1	Hidrogen	Lys745 Met793
			Hidrofobik	Val726 Leu718 lys745
	Erlotinib	-7,9	Hidrogen	Lys745 Asn842 Leu788
			Hidrofobik	Met766 Thr790 Leu777 Phe856 Val726 Ala743 Lys745 Ala743 Leu788 Leu858
CDK4	Ligan natif (Abemaciclib)	-11,1	Hidrogen Halogen	Lys35 Val96 Asp99 Glu94 Ile12 Glu56
			Hidrofobik	Ala157 Val20 Tyr17 Phe93 Ile12 Leu147 Val96 Lys35 Val20 Ile12 Leu147 Ala33 Val96
	EPMC	-7,0	Hidrogen	Lys35 val96
			Hidrofobik	Phe93 Ala33 Ile12 Lys35 His95 Ala33 Val72 Leu147 Ala157
CDK2	Ligan natif	-8,6	Hidrogen	Lys129 Leu83 Glu81
			Hidrofobik	Leu134 Ala31 Val64 Ala144 Val18
	EPMC	-6,9	Hidrogen	Leu83 Gly13 Glu81
			Hidrofobik	Val64 Leu134 Val18 Ala31
	Alvocidib	-10,7	Hidrogen	Glu12 asp145
			Halogen	Leu83
			Hidrofobik	Leu134 Val18 Lys33 Ile10 Val18 Ala31 Val64
MMP9	Ligan natif	-9,2	Hidrogen	Leu188 Ala189 His226 His230 His236 Leu187
			Elektrostatik	His226
			Hidrofobik	Leu188 His226 Tyr248 Pro246 His236 Val223
	EPMC	-7,0	Hidrogen	Leu188 Ala189 Arg249 Leu222 Glu227
			Elektrostatik	His226
			Hidrofobik	His226 Met247, tyr248 Leu222 Leu243 His226 His230 His236 Tyr248 Val223
	Marimastat	-6,9	Hidrogen	Leu188 Ala189 His236 Glu227 Pro246
			Hidrofobik	Leu188 His223 His226 Pro246 His236 Tyr248 His236

PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan analisis bioinformatika dan simulasi *molecular docking*. Analisis bioinformatika dilakukan untuk mencari target protein yang berpotensi sebagai target aksi obat terhadap

kanker serviks serta simulasi *molecular docking* untuk mencari profil penambatan antara senyawa EPMC dan gena yang terdapat dalam kanker serviks. Terdapat 10 target protein potensial yang dihasilkan dari analisis bioinformatika, diantaranya EGFR, CCND1, CDK4, CDK2, CCNA1, HGF, MMP9, CCNE1, CCNB1, CDH1. Gena tersebut masing-masing memiliki peran penting dalam kanker. Di antara 10 target protein terdapat 6 protein yang tidak dapat ditargetkan oleh EPMC yaitu CCND1, CCNA1, HGF, CCNE1, CCNB1, dan CDH1. Protein CCNA1 dan CDH1 memiliki peran sebagai suppressor tumor sehingga jika kedua protein ini dihambat maka akan berkontribusi terhadap perkembangan kanker dengan meningkatkan proliferasi (Nakayama et al., 2010; Chalertpet et al., 2015). Protein lainnya yaitu CCND1, CCNB1, CCNE1, CCNA1, dan HGF. Protein CCND1 walaupun protein yang menyebabkan proliferasi sel, namun CCND1 hanya dipengaruhi oleh CDK4 dan CDK6 sehingga belum ada obat yang menargetkan protein CCND1 (Goel, Bergholz and Zhao, 2022). Protein CCNE1 hanya dipengaruhi oleh protein CDK2 dengan membentuk kompleks untuk mengatur transisi G1/S serta memiliki fungsi independen kinase, termasuk replikasi DNA. Sebuah penelitian memvalidasi pendekatan eksperimental dan mendukung CDK2 sebagai target terapi utama dalam tumor karena ekspresi berlebih dari CCNE1 (Etemadmoghadam et al., 2013). Protein CCNB1 membentuk kompleks dengan CDK1 untuk mengatur fase G2/M dari siklus sel yang memainkan peran penting dalam inisiasi mitosis sehingga yang harus ditargetkan untuk terapi adalah CDK1 (Zou et al., 2020). Protein HGF memiliki peran yang cukup rumit pada kanker karena HGF memiliki efek metastasis onkogenik, tetapi juga memiliki fungsi antikanker (Huang et al., 2020). Oleh karena itu, protein yang dapat ditargetkan oleh EPMC adalah EGFR, CDK4, CDK2, dan MMP9. Penambatan dilakukan antara senyawa EPMC, ligan natif, dan kontrol positif seperti erlotinib, alvocidib, dan marimastat terhadap protein EGFR, CDK4, CDK2, dan MMP9. Kontrol positif digunakan untuk mencari senyawa yang berpotensi dengan membandingkan energi ikatan antara senyawa dan kontrolnya, senyawa yang memiliki energi ikatan yang lebih rendah dari kontrol merupakan senyawa yang berpotensi (Umar et al., 2021). Erlotinib bekerja dengan menghambat *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR) yang menghalangi pembelahan sel tumor serta menyebabkan kematian sel dalam sel tumor manusia yang mengekspresikan EGFR berlebih (Abdelgalil, Al-Kahtani, and Al-Jenoobi, 2020). Alvocidib adalah inhibitor *Cyclin-Dependent Kinases* (CDK) dengan bekerja mengikat langsung ke situs pengikatan ATP (Kim et al., 2005). Marimastat adalah inhibitor kuat *Matrix Metalloproteinases* (MMP) merupakan protein yang terlibat dalam pertumbuhan tumor dan metastasis (Ile, 2007).

Hasil penambatan senyawa EPMC terhadap empat protein tersebut berupa energi ikatan dan residu asam amino. Energi ikatan berfungsi untuk melihat bagaimana ligan uji berikatan dengan reseptor dimana semakin rendah energi ikatan yang diperoleh semakin stabil pengikatan antara ligan uji dan reseptor (Muttaqin et al., 2019). Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi energi ikatan yaitu jenis dan jumlah interaksi yang terjadi antara senyawa dan residu asam amino yang dihasilkan dari visualisasi (Pantsar and Poso, 2018). Visualisasi pada ke-4 protein target tersebut bertujuan untuk melihat adanya

interaksi antara residu asam amino dengan ligan sehingga memiliki aktivitas penghambatan (Sari, Junaidin and Pratiwi, 2020). Beberapa residu asam amino yang dihasilkan seperti ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik, dan ikatan elektrostatik. Banyaknya ikatan hidrogen yang terjadi antara ligan dengan protein target membuat protein mengalami perubahan konformasi yang stabil (Arwansyah, 2014). Ikatan hidrofobik dan ikatan elektrostatik dapat berperan dalam peningkatan kestabilan konformasi (Casini, Scozzafava and Supuran, 2002). Ikatan hidrofobik membuat adanya peningkatan aktivitas biologis obat dan *binding affinity* antara obat dengan targetnya (Patil et al., 2010). Ikatan elektrostatik merupakan interaksi yang lemah dan bersifat non kovalen, sehingga mudah dipisahkan, namun karena jumlahnya yang banyak, interaksi elektrostatik memberikan kontribusi penting dalam pembentukan konformasi protein yang stabil. Ikatan elektrostatik bersifat lemah dan non-kovalen, namun karena jumlahnya banyak, berperan penting dalam stabilisasi konformasi protein. (Sharp and Honig, 1990).

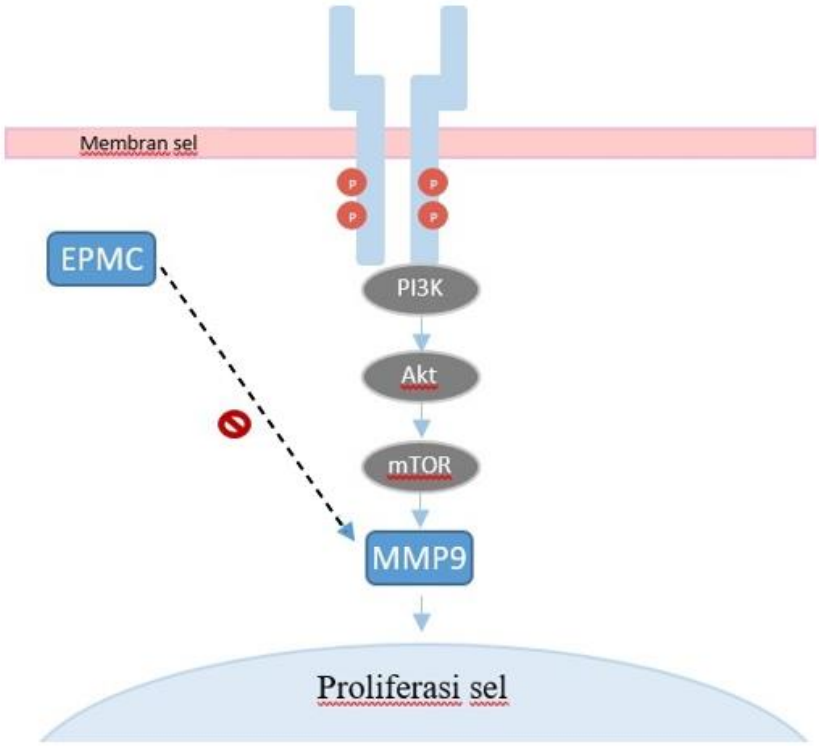
Hasil penambatan senyawa EPMC terhadap protein target EGFR menghasilkan pengikatan yang kurang kuat dimana energi ikatan senyawa EPMC lebih besar dibandingkan kontrol yang digunakan (erlotinib). Nilai energi ikatan EPMC dan erlotinib masing-masing -6,1; -7,9 kkal/mol. Hal ini terjadi karena EPMC tidak berikatan dengan sisi aktif EGFR. Sisi aktif EGFR tersebut adalah Leu694, Val702, Leu820, Ala719, Leu768, dan Lys721 (Hajalsiddig, Osman and Saeed, 2020). Salah satu cara untuk menentukan senyawa berpotensi adalah dengan membandingkan hasil dari *docking* dengan situs aktif protein (Gane & Dean, 2000).

Pada CDK4, senyawa EPMC menunjukkan hasil energi ikatan yang kurang kuat dibandingkan kontrol yang digunakan (abemaciclib). Nilai energi ikatan EPMC dan abemaciclib masing-masing -7,0; -10,7 kkal/mol. Hal ini terjadi karena EPMC hanya berikatan dengan salah satu sisi aktif dari CDK4 yaitu Val96. Sisi aktif CDK4 adalah His95, Val96, Asp97, Thr102, His100, Val101, Asp102 dan Thr107 (Day et al., 2009). Meskipun abemaciclib tidak ada yang berikatan dengan sisi aktif CDK4, abemaciclib memiliki energi ikatan yang lebih rendah daripada EPMC. Hal ini bisa dikarenakan banyaknya jenis ikatan yang terjadi pada abemaciclib membuat energi ikatan semakin rendah

Pada CDK2, senyawa EPMC menunjukkan hasil energi ikatan yang kurang kuat dibandingkan kontrol yang digunakan (alvocidib). Nilai energi ikatan EPMC dan alvocidib masing-masing -6,9; -8,2 kkal/mol. Hal ini terjadi karena EPMC hanya berikatan dengan salah satu sisi aktif dari CDK2 yaitu Val64. Sisi aktif CDK2 yaitu Leu54, Lys56, Ile63, Val64, Ala144, Asp145, dan Phe146 (Kříž et al., 2004). Semantara itu, alvocidib dapat berikatan dengan dua sisi aktif pada CDK2 yaitu Val64 dan Ala144 sehingga energi ikatan yang dihasilkan lebih kecil daripada EPMC.

Pada MMP9, senyawa EPMC menunjukkan hasil energi ikatan yang hampir sama jika dibandingkan dengan kontrol yang digunakan (marimastat). Nilai energi ikatan EPMC dan marimastat masing-masing -7.0; -6,9 kkal/mol. Senyawa EPMC dan marimastat masing-masing mengikat satu sisi aktif MMP9

yaitu Leu188. Sisi aktif MMP9 adalah Leu188, Leu397, Val398, His401, Leu 418, Met 422-Tyr 423, Leu 397, Val 398 (Tandon and Sinha, 2011). Meskipun hanya berikatan pada salah satu sisi aktif, EPMC berpotensi untuk menghambat MMP9 karena EPMC memiliki lebih banyak jenis ikatan daripada marimastat sebagai kontrol obat. Hal ini menunjukkan bahwa EPMC memiliki potensi sebagai target aksi obat terhadap kanker serviks dengan menargetkan protein MMP9. Senyawa EPMC menghambat protein MMP9 melalui jalur persinyalan PI3K. Jalur persinyalan PI3K/Akt/mTOR memainkan peran yang sangat penting dalam karsinogenesis yang diinduksi HPV dengan bekerja melalui beberapa peristiwa seluler dan molekuler (Zhang et al., 2015). Mekanisme penghambatan protein MMP9 melalui jalur PI3K-Akt tertera pada (Gambar 2).



Gambar 2. Penghambatan protein MMP9 melalui jalur PI3K oleh senyawa EPMC

Keterbatasan penelitian ini adalah metode *docking* yang digunakan dalam desain obat hanya dapat memprediksi kompleks protein dan ligan secara statis. Beberapa penelitian mengusulkan menggunakan simulasi *Molecular Dynamic* untuk lebih memahami sifat kompleks protein ligan secara dinamis dalam kondisi fisiologis (Rasyid et al., 2019). Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan simulasi *Molecular Dynamic*.

KESIMPULAN

Senyawa EPMC merupakan salah satu senyawa yang berpotensi dalam menghambat kanker serviks. Beberapa target potensial yang dihasilkan dari senyawa EPMC sebagai target aksi obat terhadap kanker

serviks berdasarkan hasil analisis bioinformatika antara lain EGFR, CCND1, CDK4, CDK2, CCNA1, HGF, MMP9, CCNE1, CCNB1, CDH1. Protein yang memiliki potensi sebagai target terapi dalam penghambatan kanker serviks yaitu MMP9. Senyawa EPMC memiliki energi, jenis, dan jumlah ikatan yang hampir sama jika dibandingkan dengan kontrol obat (marimastat) yang digunakan. Senyawa EPMC dapat bekerja melalui penghambatan pada protein MMP9 dengan jalur persinyalan PI3K-Akt yang berperan dalam meningkatan proliferasi dan apoptosis sel. Perlu dilakukan studi lanjutan seperti *molecular dynamic* untuk mengetahui stabilitas interaksi antara ligan dan protein sesuai dengan kondisi fisiologis tubuh.

REFERENSI

1. Abdelgalil, A.A., Al-Kahtani, M.H. & Al Jenoobi, I.F. 2020. Chapter Four – Erlotinib. In H.G. Brittain (Eds.). Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology. Academic Press. pp. 93-117.
2. Arwansyah & Hasrianti. 2014. Molecular docking Simulation of Curcumin and its Analogs as Selective Androgen Receptor Modulators (Sarms) in Prostate Cancer. Journal of Dynamics. 5(2): 60-75.
3. Casini, A., Scozzafava, A. & Supuran, C.T. 2002. Cysteine-Modifying Agents: A Possible Approach for Effective Anticancer and Antiviral Drugs. Environmental Health Perspectives. 110(5):801–806.
4. Chen, Q., Huang, Y., Shao, L., Han-Zhang, H., Yang, F., Wang, Y., Liu, J., & Gan, J., 2020. An EGFR-Amplified Cervical Squamous Cell Carcinoma Patient with Pulmonary Metastasis Benefits from Afatinib: A Case Report. OncoTargets and Therapy. 13: 1845–1849.
5. Chen, W., Huang, S., Shi, K., Yi, L., Liu, Y., & Liu, W. 2021. Prognostic Role of Matrix Metalloproteinases in Cervical Cancer: A Meta-Analysis. Cancer control: journal of the Moffitt Cancer Center. 28, 10732748211033743.
6. Day, P. J., Cleasby, A., Tickle, I. J., O'Reilly, M., Coyle, J. E., Holding, F. P., McMenamin, R. L., Yon, J., Chopra, R., Lengauer, C., & Jhoti, H.2009. Crystal Structure of Human CDK4 in Complex with a D-Type Cyclin. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 106(11): 4166–4170.
7. Ekowati, J., Hardjono, S. & Hamid, I.S. 2016. Ethyl P-Methoxycinnamate from Kaempferia Galanga Inhibits Angiogenesis through Tyrosine Kinase. Universa Medicina. 34(1):43-51.
8. Gane, P.J & Dean, P.M. 2000. Recent Advances in Structure-Based Rational Drug Design. Current Opinion in Structural Biology. 10:401-404.
9. Gao, Y., Wang, H., Zhong, A., & Yu, T. 2020. Expression and Prognosis of Cyclina and CDK2 in Patients with Advanced Cervical Cancer after Chemotherapy. Cellular and Molecular Biology. 66(3):85–91
10. Globocan. 2022. The Global Cancer Observatory: All Cancer. Lyon: World Health Organization.

11. Hajalsiddig, T.T.H., Osman, A.B.M. & Saeed, A.E.M. 2020. 2D-QSAR Modeling and Molecular docking Studies on 1 H -Pyrazole-1-carbothioamide Derivatives as EGFR Kinase Inhibitors. ACS Omega. 5(30):18662–18674.
12. Han, X., Yang, C., Guo, C., Xu, Y., Liu, X., Xie, R., Meng, X., Cheng, Z., & Fu, X. 2021. Bioinformatics Analysis to Screen Key Targets of Curcumin against Colorectal Cancer and the Correlation with Tumor-Infiltrating Immune Cells. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine: e-CAM. Edited by Q. Ji, 2021: 9132608.
13. Iida, K., Nakayama, K., Rahman, M.T., Rahman, M., Ishikawa, M., Katagiri, A., Yeasmin, S., Otsuki, Y., Kobayashi, H., Nakayama, S., & Miyazaki, K. 2011. EGFR Gene Amplification is Related to Adverse Clinical Outcomes in Cervical Squamous Cell Carcinoma, Making the EGFR Pathway a Novel Therapeutic Target. British Journal of Cancer. 105(3): 420–427.
14. Ile, K. 2007. Marimastat. xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference. 1-5.
15. Kementerian Kesehatan RI. 2019. Hari Kanker Sedunia 2019. Website. http://www.depkes.go.id/article/view/19020100003/hari-kanker-sedunia2019.html., accessed on August 22, 2022.
16. Kosuge, T., Yokota, M., Sugiyama, K., Saito, M., Iwata, Y., Nakura, M., & Yamamoto, T. 1985. Studies on Anticancer Principles in Chinese Medicines. II. Cytotoxic Principles in Biota orientalis (L.) ENDL. and Kaempferia galanga L. Chermical and Pharmaceutical Bulletin. 33(12): 5565 - 5567.
17. Kim, S., Wu, H.G., Shin, J.H., Park, H. J., Kim, I.A., & Kim, I.H. 2005. Enhancement of Radiation Effects by Flavopiridol in Uterine Cervix Cancer Cells. Cancer Research and Treatment. 37(3): 191-195.
18. Kříž, Z., Otyepka, M., Bártová, I., & Koca, J. 2004. Analysis of CDK2 Active-site Hydration: A Method to Design New Inhibitors, Proteins. 55(2): 258–274.
19. Lagunin, A.A., Goel, R.K., Gawande, D.Y., Pahwa, P., Gloriozova, T.A., Dmitriev, A.V., Ivanov, S.M., Rudik, A.V., Konova, V.I., Pogodin, P.V., Druzhilovsky, D.S., & Poroikov, V.V. 2014. Chemo- and Bioinformatics Resources for in silico Drug Discovery from Medicinal Plants Beyond Their Traditional Use: A Critical Review. Natural product reports. 31(11): 1585–1611.
20. Laronha, H., Carpinteiro, I., Portugal, J., Azul, A., Polido, M., Petrova, K.T., Salema-Oom, M., & Caldeira, J. 2020. Challenges in Matrix Metalloproteinases Inhibition. Biomolecules. 10(5): 717.
21. Morgillo, F., Della Corte, C.M., Fasano, M., & Ciardiello, F. 2016. Mechanisms of Resistance to EGFR-Targeted Drugs: Lung Cancer. ESMO Open. 1(3):e000060.
22. Muttaqin, F.Z. 2019. Molecular docking and Molecular Dynamic Studies of Stilbene Derivative Compounds as Sirtuin-3 (Sirt3) Histone Deacetylase Inhibitor on Melanoma Skin Cancer and Their Toxicities Prediction. Journal of Pharmacopolium. 2(2).
23. Pantsar, T. & Poso, A. 2018. Binding Affinity via Docking: Fact and Fiction. Molecules. 23(8): 1899.

24. Patil, R., Das, S., Stanley, A., Yadav, L., Sudhakar, A., & Varma, A.K. 2010. Optimized Hydrophobic Interactions and Hydrogen Bonding at the Target-Ligand Interface Leads the Pathways of Drug-Designing. PLoS ONE. 5(8):e12029.
25. Prasetiawati, R. Suherman, M., Permana, B., & Rahmawati, R. 2021. Molecular docking Study of Anthocyanidin Compounds Against Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) as Anti-Lung Cancer. Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology. 8(1): 8-20.
26. Rajkumar, T., Sabitha, K., Vijayalakshmi, N., Shirley, S., Bose, M.V., Gopal, G., & Selvaluxmy, G. 2011. Identification and Validation of Genes Involved in Cervical Tumourigenesis. BMC Cancer. 11(1): 80.
27. Sari, I.W., Junaidin, J. & Pratiwi, D. 2020. Molecular docking Study of Flavonoid Compounds of Cat's Whisker Herbs (Orthosiphon Stamineus B.) on Receptor A-Glucosidase as a Type 2 Antidiabetic. Farmagazine Journal. 7(2):54.
28. Sharp, K.A. & Honig, B. 1990. Electrostatic Interactions in Macromolecules: Theory and Applications'. Annual Review of Biophysics and Biophysical Chemistry. 19(1): 301–332.
29. Suherman, M., Prasetiawati, R. & Ramdani, D. 2020. (Tamarindus indica L.) on Selective Inhibitor. 11(2):12.
30. Tandon, A. & Sinha, S. 2011. Structural Insights into the Binding of MMP9 Inhibitors. Bioinformation. 5(8):310–314.
31. Umar, H.I., Siraj, B., Ajayi, A., Jimoh, T.O., & Chukwuemeka, P.O. 2021. Molecular docking Studies of Some Selected Gallic Acid Derivatives Against Five Non-Structural Proteins of Novel Coronavirus. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology. 19(1): 16.
32. Wang, J., Vasaikar, S., Shi, Z., Greer, M., & Zhang, B. 2017. WebGestalt 2017: A More Comprehensive, Powerful, Flexible and Interactive Gene Set Enrichment Analysis Toolkit, Nucleic Acids Research. 45(W1): W130–W137.
33. Wei, M., Bai, X. & Dong, Q. 2022. Identification of Novel Candidate Genes and Small Molecule Drugs in Ovarian Cancer by Bioinformatics Strategy. Translational Cancer Research. 11(6):1630–1643.
34. Xiao, Y., & Guan, J. 2015. 17-AAG Enhances the Cytotoxicity of Flavopiridol in Mantle Cell Lymphoma via Autophagy Suppression. Neoplasma. 62(3):391-7.
35. Zhang, L., Wu, J., Ling, M. T., Zhao, L., & Zhao, K. N. 2015. The Role of the PI3K/Akt/mTOR Signalling Pathway in Human Cancers Induced by Infection with Human Papillomaviruses. Molecular Cancer. 14:87.