

UJI IN SILICO AKTIVITAS ANTIKANKER SENYAWA PADA TANAMAN SANREGO MELALUI PENGHAMBATAN EGFR (EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR)

Leni Nuraini¹, Retno Susilowati², Ahmad Barizi³

230602210001@student.uin-malang.ac.id¹, retno.susilowati@bio.uin-malang.ac.id²,

tamaddun@uin-malang.ac.id³

Maulana Malik Ibrahim Malang State Islamic University

ABSTRACT

Cancers are disorders that cause cells to divide uncontrollably and spread to surrounding tissues. EGFR (Epidermal enhancement aspect receptor) is one of the target proteins in cancer therapy. EGFR plays a role in regulating epithelial tissue repair and homeostasis which, if overexpressed, can result in cancer. Compounds in the sanrego plant (*Lunasia amara*) are thought to have active compounds that play a role in inhibiting cancer activity. The purpose of the research was to test compounds in the sanrego plant (*Lunasia amara*) to inhibit EGFR activity (6V6O). On this observation, the physicochemical properties were checked according to the SwissADME five Lipinski rules of use. Compounds following lima lipinski guidelines were then subjected to molecular docking and molecular dynamics simulation. It was found that the binding affinity of lunamarine and lunine compounds with the EGFR receptor (6v6o) has a higher cost compared to the other test compounds, although it has a lower value than the control ligand (imidazole). The effects of molecular dynamics simulations show that lunin has the most stable formation compared to other sanrego compounds in the hydrated state.

Keywords: Cancer, Sanrego, EGFR, Molecular Docking, Molecular Dynamics Simulation.

PENDAHULUAN

Penyakit kanker adalah salah satu persoalan kesehatan utama dunia pada saat ini. Kanker adalah penyakit yang disebabkan karena kontrol pertumbuhan hilang dalam satu atau lebih sel, yang mengarah ke massa sel padat yang dikenal sebagai tumor. Tumor awal, yang dikenal sebagai tumor primer, sering mengancam jiwa dengan menghalangi pembuluh darah atau organ. Namun, kematian paling sering disebabkan oleh penyebaran tumor primer ke satu atau lebih tempat lain di tubuh (dengan proses yang disebut metastasis) [1].

Kanker disebabkan oleh kerusakan sel yang diakibatkan oleh mutasi di DNA. Pada kondisi normal sel yang rusak akan mengalami apoptosis, namun pada kanker, apoptosis mengalami penurunan bahkan dapat terjadi immortalitas yang diakibatkan adanya abnormalitas pada mekanisme DNA repair pada sel sehingga sel yang rusak tetap melalui siklus sel sehingga tetap terjadi pembelahan. Kanker mengalami perkembangan melalui proses karsinogenesis yang merupakan proses pertumbuhan penyakit kanker yang terjadi karena adanya akumulasi kerusakan-kerusakan spesifik dalam tubuh yang terdiri dari inisiasi, promosi dan progresi [2].

Pada kanker terjadi perubahan- perubahan fundamental pada fisiologi sel salah satunya yaitu kelebihan sinyal pertumbuhan karena adanya mutasi pada gen proto-oncogen sehingga menghasilkan produk protein yang abnormal yang memengaruhi fungsi kerja dengan mendorong pembelahan sel secara berlebihan. EGFR termasuk ke dalam reseptor transmembran glikoprotein yang memiliki berat molekul sekitar 170 kDa) [3]. Salah satu proto-oncogen yang mengkode EGFR yaitu Epidermal growth factor (EGF) yang berperan dalam sinyal perkembangan [4].

EGFR memiliki fungsi dalam pengaktifan domain tyrosine kinase yang berperan dalam mengatur beberapa fungsi seluler, diantaranya berupa proliferasi, diferensiasi, ekspresi gen dan perkembangan [6]. Pada dasarnya EGFR diekspresikan secara normal pada jaringan tubuh manusia [7]. Namun, pada sel kanker terdapat overekspresi gen disebabkan oleh beberapa perubahan yang dimulai dari mutasi titik hingga aberasi besar pada kromosom, seperti delesi dan translokasi. Mutasi tersebut mengakibatkan salah satu gen yang mengatur proses pertumbuhan menjadi abnormal sehingga akumulasi mutasi dalam sel dari kurun waktu tertentu akan berkembang menjadi karsinogenesis [8].

Famili EGFR terdiri dari empat protein, yang diantaranya yaitu EGFR/Her-1/erbB1, Her-2/neu, Her-3/erbB3, dan Her-4/erbB4. Protein-protein tersebut mengalirkan transduksi sinyal melalui Phosphoinositide-3-kinase (PI3K)/AKT dan Extracellular Signal-Regulated Kinase (ERK)1/2 yang berperan dalam proliferasi, migrasi, adesi sel, diferensiasi, angiogenesis dan apoptosis sel kanker [9]. EGFR sering bermutasi dan diekspresikan secara berlebihan pada berbagai jenis kanker manusia sehingga menjadi target dari beberapa terapi kanker yang saat ini diadopsi dalam praktik klinis [10]. EGFR dapat memengaruhi pensinyalan beberapa protein lain yang berasosiasi dengan tirosin diantaranya yaitu kinase phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K), SRC), protein adaptor (SHC, GRB2), faktor transkripsi (transduser sinyal dan aktivator transkripsi (STAT)), ubiquitin ligases dan fosfolipase (PLC- γ) yang mengaktifkan jalur yang berbeda seperti RAS/RAF/mitogen-activated kinase (MAP), PI3K/AKT/mammalian target rapamycin (mTOR), PLC- γ /protein kinase C dan janus kinase (JAK)/ jalur STAT [11].

Dimerisasi monomer EGFR terjadi ketika ligan EGF mengikat pada domain pengikatan ligan dari EGFR sehingga terjadi perubahan struktur. Dimerisasi EGFR merangsang aktivitas intrinsik protein tirosin kinase, akibatnya terjadi autofosforilasi tirosin, kemudian muncul aktivasi dan pensinyalan oleh beberapa protein lain yang berasosiasi dengan tirosin yang telah mengalami fosforilasi. Diantaranya yaitu kinase phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K), SRC), protein adaptor (SHC, GRB2), faktor transkripsi (transduser sinyal dan aktivator transkripsi (STAT)), ubiquitin ligases dan fosfolipase (PLC- γ) yang mengaktifkan jalur yang berbeda seperti RAS/RAF/mitogen-activated kinase (MAP), PI3K/AKT/mammalian target rapamycin (mTOR), PLC- γ /protein kinase C dan janus kinase (JAK)/ jalur STAT. Mutasi yang terjadi pada jalur ini menyebabkan pertumbuhan kanker. Penghambatan pada EGFR merupakan target terapi potensial pada kanker [12].

Penghambatan EGFR menggunakan strategi seperti inhibitor tirosin kinase dan antibodi monoklonal menghambat proliferasi sel dan mendorong apoptosis pada sel kanker in vitro dan in vivo [13]. Namun terdapat resistensi pada terapi anti-EGFR yang dapat membatasi manfaat klinis dari molekul terapeutik tersebut. Dibutuhkan pengembangan agen anti-EGFR terbaru yang terbukti ampuh dan mengkombinasikan dengan agen anti-EGFR lainnya [14]. Terdapat laporan terbaru bahwa trisubstituted imidazole dapat menghambat EGFR yang mengalami mutasi [15]. Beberapa metode lain dalam pengobatan kanker yaitu melalui pembedahan, kemoterapi dan radioterapi [16]. Namun kasus kegagalan pada kemoterapi marak terjadi. Hal tersebut dipengaruhi oleh tingkat selektifitas yang rendah dari senyawa obat antikanker pada sel normal yang mengakibatkan terjadinya efek negatif pada tubuh pasien. Selain itu terdapat kasus resistensi terhadap kemoterapi yang menyebabkan peningkatan pada dosis yang diberikan [17].

Efek samping lainnya juga ditemukan pada kemoterapi sehingga metode pengobatan alternatif atau komplementer perlu untuk dilakukan [18]. Penelitian agen kemoterapi dari tanaman dengan target pada gen pengatur pertumbuhan sel atau proliferasi sel dengan efek samping yang minimal sangat diperlukan. Oleh karena itu saat ini banyak penelitian dan

pengembangan senyawa bioaktif dari tanaman obat Indonesia yang memiliki aktivitas antikanker yang potensial dan selektif, terutama dalam mekanisme antikanker induksi apoptosis [19]. Saat ini, produk alami atau obat berbasis herbal mewakili sekitar 60% -80% dari semua obat yang digunakan pada tahun 1990. Selain itu, 70% -95% populasi dunia menggunakan obat berbasis herbal untuk perawatan primer, terutama di negara berkembang [20].

Tanaman sanrego (*Lunasia amara*) berasal dari famili rutaceae yang hidup pada habitat hutan tropis Jawa Timur,

Australia, Filipina, Kalimantan, Maluku, Sulawesi dan Papua Nugini [21]. Tanaman ini dipilih sebagai pengobatan turun-temurun, khususnya di daerah Sulawesi Selatan [22]. Tanaman sanrego (*Lunasia amara*) mengandung senyawa utama berupa alkaloid kuinolin dan seskuiterpen. Penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa *Lunasia amara* memiliki beberapa alkaloid diantaranya yaitu lunidine [23], lunacrine [24], lunamarine, lunacridine, hidroksi lunacridine, lunacridine, hydroxyl lunacridine [25] serta metabolit alkaloid lain ditemukan yang berperan sebagai pembawa isopropil utama berupa lunine [26].

Penelitian yang telah dilakukan menyebutkan bahwa adanya hubungan antara alkaloid kuinolin berupa lunacridine dengan aktivitas biologis yang berhubungan dengan sifat antikanker dengan penghambatan pada topoisomerase II [27]. Penelitian lain menyebutkan bahwa Alkaloid 2'-O- trifluoroacetyl lunacridine pada daun sanrego (*Lunasia amara*) dapat mengakibatkan apoptosis sel HeLa serta terdapat aktivitas sitotoksik sel P388 murine leukemia [28]. Alkaloid quinoline berupa lunamarine juga dilaporkan memiliki

potensi penghambatan terhadap EGFR [29]. Terdapat laporan terbaru lainnya yang menyebutkan bahwa ditemukan dua jenis alkaloid acridone baru yaitu 5- hidroksigraverolin dan 8metoksiifflaamine [30].

In silico termasuk ke dalam metode yang digunakan dalam pengembangan obat. Metode in silico dipilih sebagai pertimbangan untuk mengurangi jumlah hewan coba yang digunakan. Selain itu melalui metode ini, mekanisme suatu senyawa dalam tanaman dapat diketahui melalui visualisasi menggunakan molecular docking [31]. Metode molecular docking dapat menunjukkan aktivitas obat antikanker pada tingkat molekuler yang dipengaruhi oleh interaksi atau afinitas pengikatan antara molekul obat kecil dengan protein atau DNA [32]. Namun posisi protein saat molecular docking berada pada kondisi yang diam sedangkan posisi ligan fleksibel [33]. Pada faktanya molekul dalam tubuh memiliki kondisi yang dinamis [34].

Pengembangan suatu obat juga dipengaruhi oleh adanya pelarut. Hal tersebut disebabkan karena adanya interaksi obat dengan tubuh manusia yang sebagian besar mengandung air [35]. Diperlukan adanya pelarut agar terjadi kondisi yang dinamis dalam kompleks protein-ligan sehingga dapat dilihat proses pergerakan interaksi kedua molekul tersebut melalui simulasi dinamika molekuler yang merupakan suatu metode berbasis komputasi untuk mendapatkan informasi mengenai kondisi protein dan ligan disertai dengan adanya penambahan pelarut [36]. Penelitian dilakukan melalui metode in silico berdasarkan senyawa-senyawa dari tanaman sanrego (*Lunasia amara*) yang kemudian dilakukan analisis melalui dinamika molekuler sehingga dapat diketahui kestabilan interaksi dalam ruang dan waktu tertentu.

METODOLOGI

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi senyawa alkaloid (lunacridine, lunacrine, lunamarine, lunidine, lunine) dari herba sanrego (*Lunasia amara*) yang diakses melalui website PubChem serta senyawa kontrol (imidazole) dan reseptor EGFR yang diakses dari website PDB.

Preparasi Reseptor

Pengujian molecular docking dilakukan dengan cara melakukan preparasi reseptor yang akan diuji. Reseptor didapatkan melalui website <http://www.rcsb.org/>.

Kemudian dilakukan pencarian reseptor melalui kotak pencarian. Reseptor yang dipilih yaitu berupa EGFR dengan kode 6v6o yang memiliki resolusi 2.10 Å. Protein yang telah didapat perlu untuk dilakukan penghilangan molekul air melalui aplikasi PyMol pada menu remove water hal ini ditujukan agar proses molecular docking maupun simulasi dinamika berjalan lancar karena pengujian dilakukan hanya pada ligan dan reseptor. Reseptor yang telah dilakukan preparasi, selanjutnya disimpan dengan format pdbqt, agar dapat dilakukan pengujian molecular docking menggunakan aplikasi PyRx. Ligan yang berada pada reseptor tersebut merupakan kontrol yang nantinya akan dibandingkan dengan senyawa uji.

Preparasi Ligan

Beberapa ligan yang dipilih berasal dari tanaman sanrego (*Lunasia amara*) yang merupakan senyawa dengan golongan alkaloid. Ligan kontrol juga diperlukan agar membandingkan senyawa yang akan diuji dengan obat yang sudah dipatenkan. Ligan-ligan yang akan diuji didapatkan melalui website PubChem yang disimpan menggunakan format sdf yang akan dilakukan minimalisir energi serta dikonversi ke dalam format AutoDock Ligand (pdbqt) menggunakan aplikasi PyRx melalui OpenBabel.

Skrining Sifat Fisikokimia

Skrining yang dilakukan diawali dengan mencari kode SMILES dari masing-masing senyawa uji melalui website PubChem, selanjutnya diinput ke dalam website SwissADME untuk mendapatkan data analisis sifat fisikokimia yang mengacu pada hukum lima lipinski. Hal tersebut dilakukan agar diketahui apakah senyawa yang diuji dapat melalui sistem sirkulasi darah dengan mudah sehingga dapat bertindak sebagai pengobatan.

Molecular Docking, Visualisasi dan Molekular Dynamic

Reseptor dan ligan yang telah selesai di preparasi, akan digunakan dalam pengujian molecular docking melalui aplikasi PyRx. Tahap pertama yaitu dengan cara menginput protein yang telah dipreparasi kedalam aplikasi PyRx, kemudian dilakukan penambahan senyawa ligan yang sudah di preparasi pada reseptor melalui Vina Wizard yang telah tersedia di aplikasi PyRx. Hasil yang berupa binding affinity kemudian dianalisis dari nilai yang terendah hingga tertinggi untuk dianalisis selanjutnya melalui simulasi dinamika. Nilai binding affinity terbaik kemudian disimpan dalam format PDB untuk dilakukan analisis lanjutan. Pengujian simulasi dinamika molekuler antara masing- masing senyawa ligan dan protein disimulasikan menggunakan program dinamika molekuler GROMACS melalui WebGro yang merupakan server web Simulasi Makromolekul oleh University of Arkansas for Medical Sciences (UAMS)SimLab (<https://simlab.uams.edu/>).

Analisis Data

Analisis data diperoleh berdasarkan hasil dari uji fisikokimia melalui website SwissADME. Pengujian dilakukan sesuai dengan hukum lima lipinski berupa HBD, BM, HBA), Log P serta torsion. Menurut parameter hukum lima lipinski molekul yang berpotensi untuk dijadikan obat diantaranya yaitu memiliki berat molekul <500 g/mol, nilai Log P <5, Ikatan Hidrogen Donor 5 serta Ikatan Hidrogen Aseptor <10. Parameter lain yang digunakan yaitu berupa torsion menunjukkan tingkat fleksibilitas suatu molekul. Nilai torsion yang baik yaitu <10.

Hasil analisis docking yang berupa interaksi hidrofobik, ikatan hidrogen maupun nilai energi bebas gibbs dari senyawa uji pada reseptor EGFR dibandingkan dengan senyawa kontrol yang ditautkan pada reseptor EGFR. Setelah didapatkan senyawa uji dengan hasil terbaik, maka kemudian dilanjutkan untuk dilakukan pengujian molecular dinamika untuk

kemudian dilanjutkan untuk dilakukan analisis kestabilan protein root-mean-squared deviation (RMSD) per unit waktu, protein-ligan RMSD per unit waktu, protein root-mean-squared fluctuation (RMSF) per residu dan perubahan ikatan hidrogen protein-ligan per unit waktu

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Senyawa berupa lunacridine, lunacrine, lunamarine, lunidine dan lunine menunjukkan hasil yang layak untuk dijadikan obat oral berdasarkan kaidah hukum lima lipinski dan torsion. Suatu molekul akan memenuhi hukum lima lipinski jika memiliki Berat Molekul < 500 g/mol, H donor bond (HBD) < 5, biaya log oktanol/koefisien partisi air < + 5, H ikatan akseptor (HBA) < 10. Nilai yang digunakan sebagai parameter, disebut sebagai hukum lima Lipinski karena berupa suatu kelipatan yang diturunkan dari angka lima [37]. Kelima senyawa uji memiliki berat <500 g/mol, Nilai Log P <5, Nilai HBA < 10 dan nilai HBD <5

(Tabel 1).

Tabel 1. Hasil prediksi sifat fisikokimia dari senyawa lunacridine, lunacrine, lunamarine, lunidine, lunine.

Senyawa	Parameter Hukum Lima Lipinski				Torsion	Penerapan Hukum Lima Lipinski
	BM	Log P	HBA	HBD		
<i>Lunacridine</i>	305.37 g/mol	2.12	4	1	5	Memenuhi
<i>Lunacrine</i>	273.33 g/mol	2.51	3	0	2	Memenuhi
<i>Lunamarine</i>	309.32 g/mol	2.94	4	0	2	Memenuhi
<i>Lunidine</i>	319.35 g/mol	0.55	5	1	5	Memenuhi
<i>Lunine</i>	287.31 g/mol	2.23	4	0	1	Memenuhi

Parameter hukum lima lipinski lain berupa jumlah donor ikatan hidrogen serta akseptor ikatan hidrogen yang memiliki nilai kurang dari 5 menyebabkan suatu senyawa mampu melewati membran sel. Energi yang diperlukan suatu senyawa dapat diabsorpsi berbanding lurus terhadap jumlah ikatan hidrogen yang dimiliki [39]. Parameter lain dalam menentukan kelayakan suatu senyawa untuk dijadikan obat yaitu berupa torsion yang menunjukkan tingkat fleksibilitas suatu obat. Hasil analisis tersebut menunjukkan bahwa seluruh senyawa memiliki nilai torsi kurang dari 10. Semakin kecil nilai torsi maka memudahkan dalam pengikatan dan proses melewati membran sel [40].

Tahapan selanjutnya setelah dilakukan uji Lipinski yaitu molecular docking. Tahap awal terdiri dari menyiapkan reseptor pada penelitian ini menggunakan reseptor EGFR. Pemilihan reseptor ini dikarenakan sebagian besar kasus kanker memiliki gen EGFR yang bermutasi disertai dengan ligan asli yang dapat memengaruhi EGFR, berupa imidazole [41].

Hasil analisis dari molecular docking yaitu berupa nilai bebas energi serta pola interaksi pada residu asam amino yang ditunjukkan melalui aplikasi Discovery Studio dari

ligan dan reseptor. Hasil dari senyawa uji yang berasal dari tanaman sanrego (*Lunasia amara*) dibandingkan dengan senyawa kontrol (imidazole) melalui nilai bebas energi dan kemiripan pola interaksi antara ligan dan reseptor. Nilai energi bebas yang rendah menunjukkan tingkat kekuatan ikatan ligan dan reseptor [42].

Parameter lain yang digunakan diantaranya yaitu pola interaksi residu asam amino antara senyawa uji dan senyawa kontrol terhadap sisi pengikatan reseptor. Semakin banyak terjadinya interaksi maka menunjukkan kesamaan aktivitas biologis dan kesamaan ikatan dengan senyawa kontrol [43] [44].

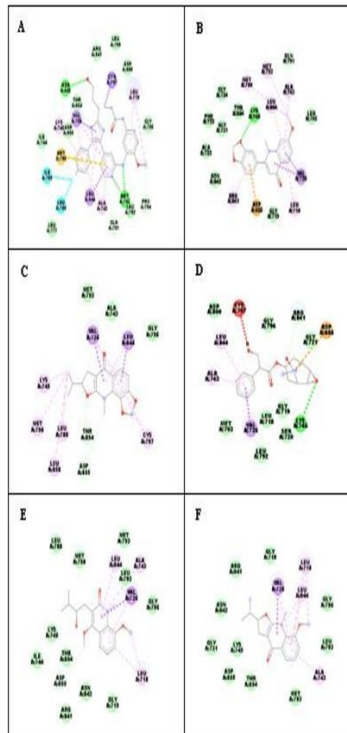
Pola interaksi residu asam amino dapat dianalisis melalui visualisasi 2D, sehingga dapat diketahui beberapa residu reseptor yang berinteraksi pada binding site [45]. Hal tersebut penting untuk dilakukan agar memastikan senyawa yang diuji berinteraksi pada area binding site reseptor. Beberapa interaksi yang dapat dianalisis meliputi ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, interaksi elektrostatik dan jarak ikatan [46]. Hasil analisis pola interaksi residu asam amino disajikan pada Tabel 2 dan Gambar 1

Tabel 2. Pola Interaksi Residu Asam Amino

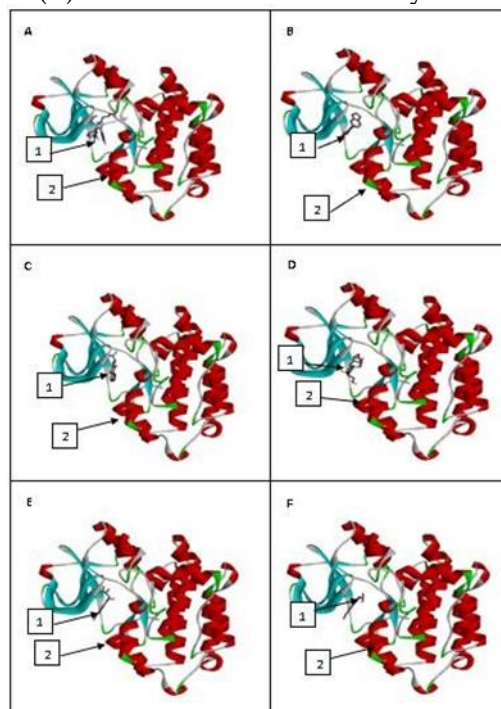
No	Senyawa	Ikatan Hidrogen		Interaksi Hidrofobik	Interaksi Elektrostatik	Binding Affinity
		Asam amino	Jarak (Å)			
1	Ligan Kontrol	Met793 Asn842 Pro794 Gln791	2,84 2,87 3,72 3,19	Val726 Leu718 Ala743 Leu844 Cys797 Lys745	-	-9,7
2	<i>Lunacridine</i>	Asp855	5,64	Val726* Ala743* Leu844* Leu718*	-	-7,8
3	<i>Lunacrine</i>	-	-	Val726* Leu844* Ala743* Leu718*	-	-8,1
4	<i>Lunamarine</i>	Lys745 Gln791*	3,16 3,55	Arg841 Leu718* Leu844* Ala743* Met793 Met790 Val726*	Asp855	-8,8
5	<i>Lunidine</i>	Lys745 Arg841	5,86 4,35	Val726* Leu844* Ala743*	Asp855	-7,7
6	<i>Lunine</i>	Thr854 Asp855	5,21 5,78	Val726* Leu844* Cys797* Leu858 Leu788 Lys745* Met790	-	-8,8

Keterangan :

*: Asam amino yang sama mirip dengan senyawa kontrol (imidazole)



Gambar 1. Visualisasi struktur 2 dimensi (A) Kontrol (B) Lunamarine (C) Lunine (D) Lunidine (E) Lunacridine (F) Lunacrine melalui Discovery Studio Visualizer



Gambar 2. Visualisasi 3D melalui aplikasi Discovery Studio Visualizer (A) Kontrol (B) Lunamarine (C) Lunine (D) Lunidine (E) Lunacridine (F) Lunacrine: ligan: 1, reseptor: 2.

Ligan kontrol memiliki nilai binding affinity yang lebih kuat dibandingkan dengan senyawa uji dari tanaman sanrego (*Lunasia amara*) dengan nilai - 9,7. Urutan hasil binding affinity dari yang tertinggi hingga terendah yaitu ligan kontrol ($\Delta G = -9,7$), lunamarine ($\Delta G = -8,8$), lunine ($\Delta G = -8,8$), lunacrine ($\Delta G = -8,1$), lunacridine ($\Delta G = -7,8$), lunidine ($\Delta G = -7,7$). Berdasarkan hal tersebut dapat dianalisis bahwa afinitas senyawa lunamarine dan lunine dengan reseptor EGFR (6V6O) lebih baik dari senyawa uji yang lain walaupun memiliki

afinitas yang lebih rendah dibandingkan ligan kontrol (Tabel 2).

Senyawa kontrol, ikatan hidrogen terdapat pada residu Met793, Asn842, SCDAxZPro794 dan Gln791. Ekstrak bulu babi (*Arbacia lixula*) yang menunjukkan aktivitas antikanker dalam menghambat siklus sel, migrasi, dan proliferasi sel kanker payudara [47] [48] [49] ditemukan berinteraksi dengan residu Cys797, Asn842, Lys728, Met793,

Arg841, Lys745, dan Gly721 [50]. Kemiripan ikatan antara senyawa uji dengan senyawa kontrol hanya terdapat pada metabolit lunamarine. Adanya kesamaan ikatan hidrogen menunjukkan adanya kemiripan dalam aktivitas biologis suatu senyawa terhadap reseptor. Jumlah ikatan hidrogen suatu senyawa terhadap residu-residu asam amino akan berkorelasi pada kekuatan ikatan antara senyawa terhadap reseptor [51].

Imidazole mengikat reseptor sehingga menginduksi dimerisasi reseptor yang mengakibatkan fosforilasi protein pada protein downstream. Namun, terdapat penghambatan internalisasi reseptor yang mengarah pada penekanan fosforilasi protein dalam protein downstream sehingga pemberian imidazole akan menurunkan tingkat fosforilasi protein [52]. Kemiripan ikatan hidrogen antara senyawa uji dan senyawa kontrol diprediksi memiliki aktivitas yang sama, yaitu pada penurunan tingkat fosforilasi protein sehingga dapat menghambat aktivitas EGFR yang mengalami overekspresi. Ikatan hidrogen yang ideal memiliki jarak antara 2.5 – 3.5 Å [53]. Jarak ikatan hidrogen pada senyawa kontrol termasuk dalam kategori yang ideal kecuali pada residu Pro794 yang memiliki jarak 3.72. Sedangkan ikatan hidrogen pada lunamarine yang memiliki kemiripan dengan senyawa kontrol tidak memenuhi syarat karena memiliki jarak 3,55. Semakin jauh jarak interaksi ikatan hidrogen akan menyebabkan penurunan pada interaksi ikatan sehingga dapat mengurangi kekuatan antar ikatan[54].

Interaksi lain yang digunakan dalam menggambarkan tingkat kestabilan senyawa terhadap reseptor yaitu Interaksi hidrofobik. Interaksi hidrofobik didefinisikan sebagai pola interaksi dengan karakteristik menjauhi lingkungan cair serta membentuk grup yang berada pada bagian dalam suatu struktur globular suatu protein. Interaksi hidrofobik memiliki peran untuk mencegah interaksi antara residu non polar terhadap air [55]. Penyebab adanya Interaksi hidrofobik yaitu dikarenakan gaya yang menyebabkan senyawa non polar mencegah kontak terhadap air ataupun senyawa amphipatik, serta mengubah struktur menyerupai misel pada air. Pembentukan misel pada protein menyebabkan pembentukan rantai di bagian samping yang bersifat non polar sehingga mencegah kontak terhadap air. Hal tersebut berperan dalam tingkat stabilitas suatu protein [56].

Ligan kontrol memiliki memiliki interaksi hidrofobik yang terjadi pada residu asam amino Val726, Leu718, Ala743, Leu844, Cys797, Lys745 (Tabel 4.3). Residu Cys797 memainkan peran penting dalam mengatur aktivitas tirosin kinase [57] oksidasi pada residu Cys797 mengakibatkan peningkatan pada aktivitas kinase [58]. Residu-residu yang terdapat pada EGFR dapat memengaruhi pensinyalan beberapa protein lain yang berasosiasi dengan tirosin diantaranya yaitu kinase phosphatidylinositol 3- kinase (PI3K), SRC), protein adaptor (SHC, GRB2), faktor transkripsi (transduser sinyal dan aktivator transkripsi (STAT)), ubiquitin ligases dan fosfolipase (PLC- γ) yang mengaktifkan jalur yang berbeda seperti RAS/RAF/mitogen-activated kinase (MAP), PI3K/AKT/mammalian target rapamycin (mTOR), PLC- γ /protein kinase C dan janus kinase (JAK)/ jalur STAT [59]. Residu asam amino lainnya berupa Val berperan dalam pertumbuhan dan bertindak sebagai prekursor glukogeni. Inhibitor analog EGFR yang paling efektif ditemukan berikatan dengan residu asam amino Cys797, Leu844, dan Val726 [60].

Keseluruhan senyawa uji memiliki pola interaksi yang menyerupai senyawa kontrol (lunacridine (residu asam amino Val726,Ala743, Leu844 dan Leu718), lunacrine(Val726,

Leu844, Ala743 dan Leu718), lunamarine (residu asam amino Leu718, Leu844, Ala743 dan Val726), lunidine (residu asam amino Val726, Leu844 dan Ala743) dan lunine (residu asam amino Val726, Leu844, Lys745 dan Cys797).

Jenis lainnya dalam menentukan tingkat stabilitas senyawa terhadap reseptor yaitu berupa interaksi elektrostatis. Interaksi elektrostatis didefinisikan sebagai interaksi yang terjadi pada atom-atom karena tingkat kepolaran yang berbeda-beda. Selain itu interaksi ini termasuk dalam interaksi yang lemah dan bersifat non-kovalen sehingga mudah lepas, namun turut berperan dalam konformasi protein [64]. Berdasarkan tabel 4.4 ligan kontrol tidak memiliki interaksi elektrostatis sedangkan pada senyawa uji hanya terdapat dua yang memiliki interaksi elektrostatis, yaitu pada lunamarine dan lunidine pada residu Asp855.

KESIMPULAN

Kesimpulan dari penelitian ini yaitu Sifat Fisikokimia senyawa tanaman sanrego (Lunasia amara) lunacridine, lunacrine, lunamarine, lunidine dan lunine telah memenuhi Hukum Lima Lipinski. Senyawa lunamarine dan lunine memiliki ikatan yang lebih kuat dibandingkan dengan senyawa lainnya, namun memiliki ikatan yang lemah jika dibandingkan dengan senyawa kontrol (imidazole). Senyawa lunine memiliki interaksi dan konformasi yang paling stabil dibandingkan senyawa tanaman sanrego lainnya dalam keadaan terhidrasi berdasarkan nilai RMSD, RMSF dan ikatan hydrogen.

DAFTAR PUSTAKA

- Thurston, D. E., & Pysz, I. 2021. Chemistry and pharmacology of anticancer drugs. CRC press.
- Zalukhu, M. L., Phyma, A. R., & Pinzon, R. T. 2016. Proses Menua, Stres Oksidatif, dan Peran Anti Oksidan. Cermin Dunia Kedokteran, 43(10).
- Rohmah, M. K. 2017. Studi In Silico Kompleks Ligand-Reseptor Eugenol Daun Basil (*Ocimum basilicum* L.) dengan Reseptor HER2 Pada Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Dengan Kontrol GEFITINIB. Jurnal Ilmiah Medicamento, 3(2).
- Rao, S. A. M., Arimappamagan, A., Pandey, P., Santosh, V., Hegde, A. S., Chandramouli, B. A., & Somasundaram, K. 2013. miR- 219-5p inhibits receptor tyrosine kinase pathway by targeting EGFR in glioblastoma. PloS one, 8(5), e63164.
- Baselga, J., Rischin, D., Ranson, M., Calvert, H., Raymond, E., Kieback, D. G., ... & Albanell, J. 2002. Phase I safety, pharmacokinetic, and pharmacodynamic trial of ZD1839, a selective oral epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, in patients with five selected solid tumor types. Journal of clinical oncology, 20(21), 4292-4302.
- Nisa', F. Z., Manik, N. H., Aprilina, R. P., & Pina. 2021. Bahan Pangan Pencegah Kanker. Yogyakarta. Gadjah mada university press
- Prenzel, N., Fischer, O. M., Streit, S., Hart, S., & Ullrich, A. 2001. The epidermal growth factor receptor family as a central element for cellular signal transduction and diversification. Endocrine-related cancer, 8(1), 11-31.
- Yarden, Y., & Pines, G. 2012. The ERBB network: at last, cancer therapy meets systems biology. Nature Reviews Cancer, 12(8), 553-563.
- Yamaoka, T., Kusumoto, S., Ando, K., Ohba, M., & Ohmori, T. 2018. Receptor tyrosine kinase-targeted cancer therapy. International journal of molecular sciences, 19(11), 3491.
- Yamaoka, T., Kusumoto, S., Ando, K., Ohba, M., & Ohmori, T. 2018. Receptor tyrosine kinase-targeted cancer therapy. International journal of molecular sciences, 19(11), 3491.
- Ramani, S., Samant, S., & Manohar, S. M. 2022. The story of EGFR: from signaling pathways to a potent anticancer target. Future Medicinal Chemistry, 14(17), 12671288.
- Yewale, C., Baradia, D., Vhora, I., Patil, S., & Misra, A. 2013. Epidermal growth factor receptor targeting in cancer: a review of trends and strategies. Biomaterials, 34(34), 8690-8707.
- Juchum M., Gunther M., Doring E., Sievers-Engler A., Lammerhofer M., Laufer S. 2017. J. Med. Chem. ;60(11):4636-4656.

- Sari, T. T., Windiastuti, E., Cempako, G. R., & Devaera, Y. 2016. Prognosis leukemia limfoblastik akut pada anak obes. *Sari Pediatri*, 12(1), 58-62.
- Suryawinata, A., & Sukohar, A. 2016. Potensi annonaceous acetogenins dari sirsak (*Annona muricata*) sebagai agen kemoterapi melalui induksi apoptosis dan inhibisi HIF-1. *Jurnal Majority*, 5(5), 97-101.
- Hu, Y., Zhou, J., Ye, F., Xiong, H., Peng, L., Zheng, Z., ... & Zhang, D. Y. 2015 investigations in *Lunasia amara*. *Pharmacognosy Reviews*, 2(4), 317.
- Naganathan, S., Pazhamalai, V., Natarajan, A., Munusami, H., & Kothandaraman, G. 2016. In silico anticancer analysis of bioactive compounds in *Vitex altissima* l and *Vitex leucoxylo* l. *J Chem Pharm Sci*, 9, 219-25.
- Chawla, R., Thakur, P., Chowdhry, A., Jaiswal, S., Sharma, A., Goel, R., ... & Arora, R. 2013. Evidence based herbal drug standardization approach in coping with challenges of holistic management of diabetes: a dreadful lifestyle disorder of 21st century. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*, 12(1), 1-16.
- Hasnaeni, H., & Wisdawati, W. 2019. Pengaruh metode ekstraksi terhadap rendemen dan kadar fenolik ekstrak tanaman Kayu Beta-beta (*Lunasia amara Blanco*). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)(e-Journal)*, 5(2), 175-182.
- Anam, M. M., Kurniati, E., & Suharto, B. 2013. Penurunan Kandungan Logam Pb Dan Cr Leachate Melalui Fitoremediasi Bambu Air (*Equisetum hyemale*) dan Zeolit (In Press, JKPTB Vol 1 No 2). *Jurnal Keteknik Pertanian Tropis dan Biosistem*, 1(2).
- Ruegger, A., & Stauffacher, D. 1963. Lunidin und Lunidonin, zwei neue Alkaloide aus *Lunasia amara BLANCO* var. *repanda* (LAUTERB. et K. SCHUM.) LAUTERB. *Helvetica Chimica Acta*, 46(6), 2329-2336.
- Wirth, E. H. 1931. *Lunasia amara* var. *costulata*. *Pharmaceutisch Weekblad*, 68, 101120.
- Openshaw, H. T. 2014. Quinoline alkaloids. *The Alkaloids: Chemistry and Physiology*. London. Academic press.
- Goodwin, S., Smith, A. F., Velasquez, A. A., & Horning, E. C. 1959. Alkaloids of *Lunasia amara blanco*. Isolation studies. *Journal of the American Chemical Society*, 81(13), 6209-6213.
- Singh, S., Das, T., Awasthi, M., Pandey, V. P., Pandey, B., & Dwivedi, U. N. 2016. DNA topoisomerase-directed anticancerous alkaloids: ADMET- based screening, molecular docking, and dynamics simulation. *Biotechnology and applied biochemistry*, 63(1), 125-137.
- Zubair, M. S., & Subehan, S. 2010. Molecular docking of lunacridine from *Lunasia amara* to DNA: its inhibition and interaction study correlated with the cytotoxic activity on P388 murine leukemia cells. *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention*, 1(2), 108-117.
- Saini, N., Grewal, A. S., Lather, V., & Gahlawat, S. K. 2022. Natural alkaloids targeting EGFR in non-small cell lung cancer: Molecular docking and ADMET predictions. *Chemico-Biological Interactions*, 358, 109901.
- Takahashi, N., Kadota, S., & Tezuka, Y. 2012. Mechanism- based CYP2D6 inactivation by acridone alkaloids of Indonesian medicinal plant *Lunasia amara*. *Fitoterapia*, 83(4), 774-779.
- Mirza, A. Z., Althagafi, I. I., & Shamshad, H. (2019). Role of PPAR receptor in different diseases and their ligands: Physiological importance and clinical implications. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 166, 502-513.
- Sharma, P., Mehta, M., Dhanjal, D. S., Kaur, S., Gupta, G., Singh, H., ... & Satija, S. (2019). Emerging trends in the novel drug delivery approaches for the treatment of lung cancer. *Chemico biological interactions*, 309, 108720.
- Stadtmauer, E. A., Fraietta, J. A., Davis, M. M., Cohen, A. D., Weber, K. L., Lancaster, E., ... & June, C. H. (2020). CRISPR-engineered T cells in patients with refractory cancer. *Science*, 367(6481), eaba7365.
- Yang, K., Sheng, Y., Huang, C.,

- Jin, Y., Xiong, N., Jiang, K., ... & Wu, G. (2020). Clinical characteristics, outcomes, and risk factors for mortality in patients with cancer and COVID-19 in Hubei, China: a multicentre, retrospective, cohort study. *The Lancet Oncology*, 21(7), 904-913.
- Low, S., Ng, T. P., Lim, C. L., Ang, S. F., Moh, A., Wang, J., ... & Lim, S. C. 2021. Higher ratio of extracellular water to total body water was associated with reduced cognitive function in type 2 diabetes. *Journal of Diabetes*, 73(3), 222-231.
- Muttaqin, F. Z., Muhammad, F. P., dan Fransiskan, K. 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).
- Fakhruri, M., & Rahmayanti, Y. 2021. Potensi Fitokimia Citrus Aurantium (Hesperetin, Naringenin) Dalam Menghambat Xantin Oksidase Pada Hiperurisemia Secara In Silico. *Jurnal Health Sains*, 2(1), 79-89.
- Chagas, C. M., Moss, S., & Alisaraie, L. 2018. Drug metabolites and their effects on the development of adverse reactions: Revisiting Lipinski's Rule of Five. *International journal of pharmaceutics*, 549(1-2), 133–149.
- Heppner, D. E., Günther, M., Wittlinger, F., Laufer, S. A., & Eck, M. J. 2020. Structural basis for EGFR mutant inhibition by trisubstituted imidazole inhibitors. *Journal of medicinal chemistry*, 63(8), 4293-4305.
- Dewi, R. R. 2019. Virtual Screening Struktur Modifikasi Isoniazid terhadap Enzim Katalase Peroxidase menggunakan Metode Docking. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 4(1).
- Naufa, F., Mutiah, R., & Indrawijaya, Y. Y. A. 2022. Studi in Silico Potensi Senyawa Katekin Teh Hijau (*Camellia sinensis*) sebagai Antivirus SARS CoV-2 terhadap Spike Glycoprotein (6LZG) dan Main Protease (5R7Y). *J. Food Pharm. Sci*, 10(1), 584-596.
- Shofi, M. (2021). Studi In Silico Senyawa Kuarsetin Daun Kencana Ungu (*Ruellia tuberosa* L.) Sebagai Agen Antikanker Payudara. *Jurnal Sintesis: Penelitian Sains, Terapan dan Analisisnya*, 2(1), 1-9.
- Ferdian, P. R., Elfirta, R. R., Ikhwan, A. Z. N., Kasirah, K., Haerul, H., Sutardi, D., & Ruhiat, G. 2021. Studi In Silico Senyawa Fenolik Madu sebagai Kandidat Inhibitor Mpro SARS-CoV-2. *Media Penelitian Dan Pengembangan Kesehatan*, 31(3), 213-232.
- Faqiha, A. F., Indrawijaya, Y. Y. A., Suryadinata, A., Amiruddin, M., & Mutiah, R. 2022. Potensi senyawa nitazoxanide dan arbidol sebagai antivirus SARS-CoV-2 terhadap reseptor NSP5 (7BQY dan 2GZ7) dan ACE2 (3D0G dan 1R4L). *Journal of Food and Pharmaceutical Sciences*, 10(1), 570-583.
- Luparello, C., Ragona, D., Asaro, D. M. L., Lazzara, V., Affranchi, F., Arizza, V., & Vazzana, M. 2020. Cell-free coelomic fluid extracts of the sea urchin *Arbacia lixula* impair mitochondrial potential and cell cycle distribution and stimulate reactive oxygen species production and autophagic activity in triple-negative MDA-MB231 breast cancer cells. *Journal of Marine Science and Engineering*, 8(4), 261.
- Cirino, P., Brunet, C., Ciaravolo, M., Galasso, C., Musco, L., Vega Fernández, T. & Toscano, A. 2017. The sea urchin *Arbacia lixula*: A novel natural source of astaxanthin. *Marine Drugs*, 15(6), 187.
- McCall, B., McPartland, C. K., Moore, R., Frank-Kamenetskii, A., & Booth, B. W. 2018. Effects of astaxanthin on the proliferation and migration of breast cancer cells in vitro. *Antioxidants*, 7(10), 135.
- Widyananda, M. H., Pratama, S. K., Samoedra, R. S., Sari, F. N., Kharisma, V. D., Ansori, A. N. M., & Antonius, Y. 2021. Molecular docking study of sea urchin (*Arbacia lixula*) peptides as multi-target inhibitor for non-small cell lung cancer (NSCLC) associated proteins. *J Pharm Pharmacogn Res*, 9(4), 484-496.

- Ruswanto, R. 2015. molecular docking empat turunan isonicotinohydrazide pada mycobacterium tuberculosis enoyl- acyl carrier protein reductase (InhA). *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-Ilmu Keperawatan, Analis Kesehatan Dan Farmasi*, 13(1).
- Kalra, S., Joshi, G., Kumar, M., Arora, S., Kaur, H., Singh, S., ... & Kumar, R. 2020. Anticancer potential of some imidazole and fused imidazole derivatives: Exploring the mechanism via epidermal growth factor receptor (EGFR) inhibition. *RSC Medicinal Chemistry*, 11(8), 923-939.
- Syahputra, G., Ambarsari, L., dan Sumaryada, T. 2014. Simulasi Docking Kurkumin Enol, Bisdemetoksikurkumin Dan Analognya Sebagai Inhibitor Enzim 12-Lipoksigenase. *Jurnal Biofisika*, 10(1), 55-67.
- 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.
- Arwansyah., Laksmi A., dan Tony I.S. 2014. Simulasi Docking Senyawa Kurkumin dan Analognya Sebagai Inhibitor Reseptor Androgen pada Kanker Prostat. *Current Biochemistry*, 1 (1).
- Voet, D., & Judith, G. (2011). Covalent Structures of Proteins and Nucleic Acids. *Biochemistry*, 163-205.
- Heppner, D. E., Hristova, M., Dustin, C. M., Danyal, K., Habibovic, A., & van der Vliet, A. 2016. The NADPH oxidases DUOX1 and NOX2 play distinct roles in redox regulation of epidermal growth factor receptor signaling. *Journal of Biological Chemistry*, 291(44), 23282-23293.
- Heppner, D. E., & van der Vliet, A. 2016. Redox-dependent regulation of epidermal growth factor receptor signaling. *Redox Biology*, 8, 24-27.
- Yamaoka, T., Kusumoto, S., Ando, K., Ohba, M., & Ohmori, T. 2018. Receptor tyrosine kinase-targeted cancer therapy. *International journal of molecular sciences*, 19(11), 3491.
- Suprianto, Ni Kadek Dewi Permatasari, Gusti Ayu Kadek Yunita Safitri. 2021. Amino Acids Composition of Non- structural Protein In Sars-CoV-2 The Cause of Covid-19 Pandemic. *EduChemia (Jurnal Kimia dan Pendidikan)* 6 (1).
- Dong, B. L., Liao, Q. H., & Wei, J. 2011. Docking and molecular dynamics study on the inhibitory activity of N, N-disubstituted-trifluoro-3-amino-2-propanols- based inhibitors of cholesteryl ester transfer protein. *Journal of molecular modeling*, 17, 1727-1734.
- Arwansyah., Laksmi A., dan Tony I.S. 2014. Simulasi Docking Senyawa Kurkumin dan Analognya Sebagai Inhibitor Reseptor Androgen pada Kanker Prostat. *Current Biochemistry*, 1 (1).
- Sumardjo, D. 2009. Pengantar Kimia Buku Panduan Kuliah Mahasiswa Kedokteran. Jakarta: EGC.
- Arwansyah., Laksmi A., dan Tony I.S. 2014. Simulasi Docking Senyawa Kurkumin dan Analognya Sebagai Inhibitor Reseptor Androgen pada Kanker Prostat. *Current Biochemistry*, 1 (1).