



E-ISSN: 2774-1710

P-ISSN: 2302-7851



Volume 9 No.1
Februari - Juni 2022

BERKALA
ILMIAH
MAHASISWA
FARMASI
INDONESIA

BIMFI

INDONESIAN PHARMACY STUDENT JOURNAL

Susunan Pengurus

Penyunting

Dr. apt. Hadi Kuncoro, S.Farm.,
M.Farm. *Universitas Mulawarman*

Penanggung Jawab

Damas Raja Alvinu Fajri

Pimpinan Umum

Syafura Az-Zahra *Universitas Indonesia*

Wakil Pimpinan Umum

Annisa Nur Rahmadhani
Universitas Muhammadiyah Prof Dr Hamka

Pimpinan Redaksi

Sekar Arum Ayu Firsanti
Universitas Diponegoro

Sekretaris

Nasal Auni Rabbina *Universitas Indonesia*
Ulima Sani Lathifa *Universitas Gadjah Mada*

Bendahara

Botefilia Maharani *Universitas Indonesia*
Visca Nevianda *Universitas Muhammadiyah Prof Dr Hamka*

Mitra Bestari

Prof. Dr. Sahidin, M.Si *Universitas Halu Oleo*
Dr. apt. Islamudin Ahmad S.Si.,
M.Si. *Universitas Mulawarman*
Dr. Khairul Anam, S.Si., M.Si.
Universitas Diponegoro
Dr. Prima Endang Susilowati, M.Si.
Universitas Halu Oleo

Dewan Redaksi

Galuh Zhafirah Rahmita *Universitas Indonesia*

Dannisya Alzura *Universitas Indonesia*

Andhini Fajriaty *Universitas Lambung Mangkurat*

Emmanuela Stefany Sugiarto
Institut Teknologi Bandung

Lika Ginanti Febriana *Universitas Padjajaran*

Adinda Niki *Universitas Padjajaran*

PSDM dan LITBANG

Karina Wan Azizah
Universitas Muhammadiyah Prof Dr Hamka

Yola Yuwananda *Universitas Muhammadiyah Prof Dr Hamka*

Yasmin Zulfah *Universitas Airlangga*

Suci Hasani *Universitas Andalas*

Noer Luthfianeu Edsyah *Universitas Indonesia*

Fathia Yusrina *Universitas Indonesia*

Humas dan Promosi

Chrispinus Lingga Chondro Saputro
Universitas Sanata Dharma

Dinda Galuh Margaretnasari *Universitas Mulawarman*

Abdul Fattah Farid *Universitas Airlangga*

Nur Hidayah Saputri *Universitas Mandala Waluya Kendari*

Muhammad Riyadz Aqsha *Universitas Perintis Indonesia*

Axl L L Windah *Universitas Sam Ratulangi*

Tata Letak dan Layout

Nahdiya Rahmah *Universitas Lambung Mangkurat*

Nahdha *Universitas Lambung Mangkurat*

Anita Nur Azizah *Universitas Lambung Mangkurat*

Mega Silviana *Universitas Sumatera Utara*

Denisa Alika Masyhud *Universitas Indonesia*

Caroline Lieanto *Universitas Gadjah Mada*

Susunan Pengurus	ii
Daftar Isi	iii
Pedoman Penulisan	v
Setitik Ilmu	xii
Sambutan Pemimpin Umum	xiii

Penelitian

STUDI <i>IN SILICO</i> SENYAWA BIOAKTIF KUERSETIN KULIT JERUK NIPIS (<i>Citrus aurantifolia</i>) SEBAGAI AGEN ANTIKANKER PAYUDARA <i>Ivana Kinanti Kenyori, Maura Shavira Alamsyah, Cut Intan Ayu Nurjanah</i>	1
ANALISIS <i>IN SILICO</i> PENCEGAHAN PENUAAN KULIT MELALUI PENGHAMBATAN <i>CELLULAR SENESENCE</i> TERTARGET INHIBISI CD36 OLEH SENYAWA AKTIF <i>CINNAMOMUM ZEYLANICUM</i> <i>Putri Anggraini Budianto, Novia Permata Hapsari, Dhiya Ulhaq Salsabila</i>	11
SKRINING VIRTUAL BERBASIS LIGAN SENYAWA PRODUK NATURAL TERHADAP SARS-COV-2 MAIN PROTEASE (Mpro) MENGGUNAKAN PENDEKATAN SIMILARITAS SUBSTRUKTUR DAN PEMBELAJARAN MESIN <i>GP. Wahyunanda Crista Yuda</i>	25
TINGKAT PENGETAHUAN PENGGUNAAN OBAT ANTIBIOTIK DI TELUKJAMBE TIMUR KARAWANG <i>Desi Sintia S., Listia Nurkholifa, Naufal Rizal R. , Silky Maulina, Tegar Wiguna T., Theshinta Berliana W., Warsono</i>	42
INHIBISI DNMT3B UNTUK MENGHAMBAT PERKEMBANGAN SEL KANKER KULIT DENGAN SENYAWA MINYAK ATSIRI KAYU MANIS MELALUI STUDI <i>IN SILICO</i> DAN PROTEOMIK <i>Khusnul Agustina, Putri Anggraini Budianto, Christopher Filando Santoso, Rumiayati</i>	49

Pedoman Penulisan Artikel Berkala Ilmiah Mahasiswa Farmasi Indonesia (BIMFI)

Scientific Journal of Indonesian Pharmacy Students

Berkala Ilmiah Mahasiswa Farmasi Indonesia (BIMFI) adalah publikasi tiap enam bulanan yang menggunakan sistem seleksi *peer-review* dan redaktur. Naskah diterima oleh redaksi, mendapat seleksi validitas oleh *peer-reviewer*, serta seleksi dan pengeditan oleh redaktur. BIMFI menerima artikel penelitian asli yang berhubungan dengan kelompok bidang ilmu farmakologi, farmasetika, teknologi sediaan farmasi, farmakognosi, fitokimia, kimia farmasi, bioteknologi farmasi, artikel tinjauan pustaka, laporan kasus, artikel penyegar ilmu kedokteran dan kesehatan, advertorial, petunjuk praktis, serta editorial. Tulisan merupakan tulisan asli (bukan plagiat) dan sesuai dengan kompetensi mahasiswa farmasi.

Kriteria artikel

- 1. Penelitian asli:** hasil penelitian asli dalam ilmu farmasi, kesehatan masyarakat, dan ilmu dasar farmasi. Format terdiri dari judul penelitian, nama dan lembaga pengarang, abstrak, dan teks (pendahuluan, metode, hasil, pembahasan/diskusi, kesimpulan, dan saran).
- 2. Tinjauan pustaka:** tulisan artikel *review*/sebuah tinjauan terhadap suatu fenomena atau ilmu dalam dunia farmasi, ditulis dengan memperhatikan aspek aktual dan bermanfaat bagi pembaca.
- 3. Laporan kasus:** artikel tentang kasus yang menarik dan bermanfaat bagi pembaca. Artikel ini ditulis sesuai pemeriksaan, analisis, dan penatalaksanaan sesuai kompetensi farmasi. Format terdiri dari pendahuluan, laporan, pembahasan, dan kesimpulan.
- 4. Artikel penyegar ilmu farmasi:** artikel yang bersifat bebas ilmiah, mengangkat topik-topik yang sangat menarik dalam dunia farmasi atau kesehatan, memberikan *human interest* karena sifat keilmiahannya, serta ditulis secara baik. Artikel bersifat tinjauan serta mengingatkan pada hal-hal dasar atau farmasi yang perlu diketahui oleh pembaca.
- 5. Editorial:** artikel yang membahas berbagai hal dalam dunia farmasi dan kesehatan, mulai dari ilmu dasar farmasi, berbagai metode terbaru, organisasi, penelitian, penulisan di bidang farmasi, lapangan kerja sampai karir dalam dunia farmasi. Artikel ditulis sesuai kompetensi mahasiswa farmasi.

6. **Petunjuk praktis:** artikel berisi panduan analisis atau tatalaksana yang ditulis secara tajam, bersifat langsung (*to the point*) dan penting diketahui oleh pembaca (mahasiswa farmasi).
7. **Advertorial:** artikel singkat mengenai obat atau kombinasi obat terbaru, beserta penelitian, dan kesimpulannya. Penulisan berdasarkan metode studi pustaka.

Petunjuk Bagi Penulis

1. BIMFI hanya akan memuat tulisan asli yang belum pernah diterbitkan baik pada jurnal cetak maupun online
2. Naskah ditulis dalam bahasa Indonesia yang baik dan benar, jelas, lugas, serta ringkas. Naskah diketik di atas kertas A4 dengan 1.5 spasi, kecuali untuk abstrak 1 spasi. Ketikan tidak dibenarkan dibuat timbal balik. Ketikan diberi nomor halaman mulai dari halaman judul. Batas kiri, atas, bawah, dan kanan setiap halaman adalah 4 cm, 3 cm, 3 cm dan 3 cm.
3. Naskah harus diketik dengan komputer dan harus memakai program Microsoft Word. Naskah dikirimkan langsung ke web BIMFI yang telah bersistem OJS (*Open Journal System*). Lalu, penulis harus mengisi formulir yang berisi identitas dan mengunggah surat orisinalitas.
4. Untuk keseragaman penulisan, khusus naskah **Penelitian asli** harus mengikuti sistematika sebagai berikut:
 1. Judul karangan (Title)
 2. Nama dan Lembaga Pengarang (Authors and Institution)
 3. Abstrak (Abstract)
 4. Naskah (Text), yang terdiri atas:
 - Pendahuluan (Introduction)
 - Metode (Methods)
 - Hasil (Results)
 - Pembahasan (Discussion)
 - Kesimpulan
 - Saran
 5. Daftar Rujukan (Reference)
5. Untuk keseragaman penulisan, khusus naskah **Tinjauan pustaka** harus mengikuti sistematika sebagai berikut:
 1. Judul
 2. Nama penulis dan lembaga pengarang
 3. Abstrak
 4. Naskah (Text), yang terdiri atas:
 - Pendahuluan (termasuk masalah yang akan dibahas)
 - Pembahasan
 - Kesimpulan
 - Saran

5. Daftar Rujukan (Reference)

6. Judul ditulis dengan huruf besar, dan bila perlu dapat dilengkapi dengan anak judul. Naskah yang telah disajikan dalam pertemuan ilmiah nasional dibuat keterangan berupa catatan kaki.
7. Nama penulis yang dicantumkan paling banyak enam orang, dan bila lebih cukup diikuti dengan kata-kata: *dkk* atau *et al.* Nama penulis harus disertai dengan asal fakultas penulis. Alamat korespondensi ditulis lengkap dengan nomor telepon dan email.
8. Abstrak harus dibuat dalam bahasa Inggris serta bahasa Indonesia. Panjang abstrak tidak melebihi 200 kata dan diletakkan setelah judul makalah dan nama penulis.
9. Kata kunci (*key words*) yang menyertai abstrak ditulis dalam bahasa Inggris dan bahasa Indonesia. Kata kunci diletakkan di bawah judul setelah abstrak. Tidak lebih dari 5 kata, dan sebaiknya bukan merupakan pengulangan kata-kata dalam judul.
10. Kata asing yang belum diubah ke dalam bahasa Indonesia ditulis dengan huruf miring (*italic*).
11. Tabel
12. Gambar
13. Metode statistik
14. Ucapan terima kasih
15. Daftar rujukan disusun menurut sistem *Vancouver*, diberi nomor sesuai dengan pemunculan dalam keseluruhan teks, bukan menurut abjad. Contoh cara penulisan dapat dilihat

1. Artikel dalam jurnal

i. Artikel standar

Vega Kj, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreatobiliary disease. *Ann Intern Med* 1996 Jun 1;124(11):980-3.

atau

Vega Kj, Pina I, Krevsky B. Heart transplantation is associated with an increased risk for pancreatobiliary disease. *Ann Intern Med* 1996;124:980-3.

Penulis lebih dari enam orang

Parkin Dm, Clayton D, Black RJ, Masuyer E, Freidl HP, Ivanov E, et al. Childhood leukaemia in Europe after Chernobyl: 5 year follow-up. *Br j Cancer* 1996;73:1006-12.

ii. Suatu organisasi sebagai penulis

The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing. Safety and performance guidelines. *Med J Aust* 1996;164:282-4.

iii. Tanpa nama penulis

Cancer in South Africa [editorial]. *S Afr Med J* 1994;84:15.

- iv. **Artikel tidak dalam bahasa Inggris**
Ryder TE, Haukeland EA, Solhaug JH. Bilateral infrapatellar seneruptur hos tidligere frisk kvinne. Tidsskr Nor Laegeforen 1996;116:41-2.
- v. **Volum dengan suplemen**
Shen HM, Zhang QF. Risk assessment of nickel carcinogenicity and occupational lung cancer. Environ Health Perspect 1994;102 Suppl 1:275-82.
- vi. **Edisi dengan suplemen**
Payne DK, Sullivan MD, Massie MJ. Women`s psychological reactions to breast cancer. Semin Oncol 1996;23(1 Suppl 2):89-97.
- vii. **Volum dengan bagian**
Ozben T, Nacitarhan S, Tuncer N. Plasma and urine sialic acid in non-insulin dependent diabetes mellitus. Ann Clin Biochem 1995;32(Pt 3):303-6.
- viii. **Edisi dengan bagian**
Poole GH, Mills SM. One hundred consecutive cases of flap laceration of the leg in ageing patients. N Z Med J 1990;107(986 Pt 1):377-8.
- ix. **Edisi tanpa volum**
Turan I, Wredmark T, Fellander-Tsai L. Arthroscopic ankle arthrodesis in rheumatoid arthritis. Clin Orthop 1995;(320):110-4.
- x. **Tanpa edisi atau volum**
Browell DA, Lennard TW. Immunologic status of cancer patient and the effects of blood transfusion on antitumor responses. Curr Opin Gen Surg 1993;325-33.
- xi. **Nomor halaman dalam angka Romawi**
Fischer GA, Sikic BI. Drug resistance in clinical oncology and hematology. Introduction. Hematol Oncol Clin North Am 1995 Apr;9(2):xi-xii.

2. Buku dan monograf lain

- i. **Penulis perseorangan**
Ringsven MK, Bond D. Gerontology and leadership skills for nurses. 2nd ed. Albany (NY): Delmar Publishers; 1996.
- ii. **Editor, sebagai penulis**
Norman IJ, Redfern SJ, editors. Mental health care for elderly people. New York: Churchill Livingstone; 1996.
- iii. **Organisasi dengan penulis**
Institute of Medicine (US). Looking at the future of the Medicaid program. Washington:

The Institute; 1992.

iv. **Bab dalam buku**

Philips SJ, Whisnant JP. Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. Hypertension: patophysiology, diagnosis, and management. 2nd ed. New York: Raven Press; 1995.p.465-78.

v. **Prosiding konferensi**

Kimura J, Shibasaki H, editors. Recent advances in clinical neurophysiology. Proceedings of the 10th International Congress of EMG and Clinical Neurophysiology; 1995 Oct 15-19; Kyoto, Japan. Amsterdam: Elsevier; 1996.

vi. **Makalah dalam konferensi**

Bengtsson S, Solheim BG. Enforcement of data protection, privacy and security in medical information. In: Lun KC, Degoulet P, Piemme TE, Rienhoff O, editors. MEDINFO 92. Proceedings of the 7th World Congress on Medical Informatics; 1992 Sep 6-10; Geneva, Switzerland. Amsterdam: North-Holland; 1992.p.1561-5.

vii. **Laporan ilmiah atau laporan teknis**

1. Diterbitkan oleh badan penyanggah dana/sponsor:

Smith P, Golladay K. Payment for durable medical equipment billed during skilled nursing facility stays. Final report. Dallas (TX): Dept. of Health and Human Services (US), Office of Evaluation and Inspection; 1994 Oct. Report No.: HHSIGOEI69200860.

2. Diterbitkan oleh unit pelaksana

Field MJ, Tranquada RE, Feasley JC, editors. Health services research: work force and education issues. Washington: National Academy Press; 1995. Contract no.: AHCPR282942008. Sponsored by the Agency for Health Care Policy and research.

viii. **Disertasi**

Kaplan SJ. Post-hospital home health care: the elderly/access and utilization [dissertation]. St. Louis (MO): Washington univ.; 1995.

ix. **Artikel dalam Koran**

Lee G. Hospitalizations tied to ozone pollution: study estimates 50,000 admissions annually. The Washington Post 1996 Jun 21;Sect A:3 (col. 5).

x. **Materi audiovisual**

HIV + AIDS: the facts and the future [videocassette]. St. Louis (MO): Mosby-Year book; 1995.

3. Materi elektronik

i. Artikel journal dalam format elektronik

Morse SS. Factors in the emergence of infectious disease. *Emerg Infect Dis* [serial online] 1995 Jan-Mar [cited 1996 Jun 5];1(1):[24 screens]. Available from: URL: HYPERLINK <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/eid.htm>

ii. Monograf dalam format elektronik

CDI, clinical dermatology illustrated [monograph on CD-ROM]. Reeves JRT, Maibach H. CMEA Multimedia Group, producers. 2nd ed. Version 2.0. San Diego: CMEA; 1995.

iii. Arsip computer

Hemodynamics III: the ups and downs of hemodynamics [computer program]. Version 2.2. Orlando (FL): Computerized Educational Systems; 1993.

Berkala Ilmiah Mahasiswa Farmasi Indonesia (BIMFI)

Scientific Journal of Indonesian Pharmaceutical Students

Satu-satunya jurnal mahasiswa farmasi Indonesia

Berkala Ilmiah Mahasiswa Farmasi Indonesia (BIMFI) atau *Scientific Journal of Indonesian Pharmaceutical Students* merupakan berkala ilmiah yang diterbitkan oleh Ikatan Senat Mahasiswa Farmasi Seluruh Indonesia (ISMAFARSI) setiap enam bulan sekali. Publikasi naskah dilakukan setiap bulan Juni dan Desember. Berkala ilmiah ini merupakan langkah awal ISMAFARSI dalam memenuhi kebutuhan mahasiswa farmasi terhadap jurnal ilmiah dan media publikasi naskah penelitian dan artikel ilmiah terkait ilmu kefarmasian di Indonesia. BIMFI berasaskan dari, oleh, dan untuk mahasiswa.

Kriteria jenis tulisan yang tercantum dalam BIMFI adalah penelitian asli, tinjauan pustaka, laporan kasus, artikel penyegar, editorial, petunjuk praktis, dan advertorial yang dibuat oleh mahasiswa farmasi Indonesia. Karya ilmiah yang dipublikasikan merupakan artikel terbaik yang sudah menjalani tahap penyaringan, penilaian, dan penyuntingan. Karya ilmiah yang dimuat dalam BIMFI terbagi dalam kelompok bidang ilmu, seperti Farmakologi, Farmakoterapi, Farmasetika, Teknologi Sediaan Farmasi, Farmakognosi, Fitokimia, Kimia Farmasi, Analisis Farmasi, Mikrobiologi Farmasi, dan Bioteknologi Farmasi. Karya yang dipublikasikan adalah tulisan asli (bukan plagiat) dan sesuai dengan kompetensi mahasiswa farmasi Indonesia.

Naskah yang diterima oleh jurnal BIMFI akan dikirim kepada dua mitrabestari yang ahli di bidangnya. Setiap naskah yang diterima oleh anggota redaksi akan diperiksa untuk menyesuaikan dengan ketentuan penulisan artikel di jurnal BIMFI. Selanjutnya, naskah tersebut akan melalui tahap penilaian dan *review* oleh mitra bestari. Komentar dan saran dari mitra bestari akan dikirim ke penulis untuk menanggapi ulasan mitrabestari dan mengirim kembali naskah revisi dalam waktu yang telah ditentukan. Naskah yang telah lulus tahap *review* akan disunting oleh dewan penyunting. Naskah dipublikasikan merupakan naskah yang telah melalui proses penyuntingan dari aspek tata bahasa, tanda baca, gaya cetak, dan format. Naskah yang telah lulus tahap editing sesuai waktu yang ditentukan akan dipublikasikan di jurnal BIMFI. Seluruh proses pengajuan naskah, proses *review*, hingga penerbitan dilakukan secara *online*.

Sambutan Pemimpin Umum

*Salam dari Pimpinan Umum,
Assalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.*

Salam sejahtera bagi kita semua. Puji syukur kehadirat Allah swt. atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga Jurnal Elektronik Berkala Ilmiah Mahasiswa Farmasi Indonesia (BIMFI) Volume 9 No.1 tahun 2021 dapat diterbitkan dengan tepat waktu. Jurnal Elektronik BIMFI Volume 9 No.1 ini memuat naskah penelitian dan artikel ilmiah karya mahasiswa/i farmasi seluruh Indonesia yang telah lolos tahap *review* dan penilaian oleh para mitra bestari serta disunting oleh dewan penyunting.

Saya mengucapkan terima kasih kepada Dr. apt. Hadi Kuncoro, S.Farm., M.Farm., (Universitas Mulawarman) selaku dewan penyunting *E-journal* BIMFI Volume 9 No.1. Saya juga mengucapkan terima kasih kepada Dr. apt. Islamudin Ahmad, S.Si., M.Si., (Universitas Mulawarman), Dr. Khairul Anam, S.Si., M.Si., (Universitas Diponegoro), Dr. Prima Endang Susilowati, M.Si., (Univeristas Halu Oleo), dan Prof. Dr. Sahidin., M.Si., selaku mitra bestari *E-journal* BIMFI Volume 9 No.1.

Ucapan terimakasih saya sampaikan kepada seluruh pengurus BIMFI 2020—2022 yang terdiri atas tim redaksi, tim tata letak dan *layout*, tim humas dan promosi, tim PSDM dan litbang, serta divisi sekretaris dan bendahara yang telah memberikan kontribusi serta dedikasi terbaik pada penerbitan *E-journal* BIMFI Volume 9 No.1. Ucapan terimakasih pula saya sampaikan kepada Widia Tri Utami selaku Staff Ahli PSE ISMAFARSI dan Damas Raja Alvinu Fajri selaku Sekretaris Jendral ISMAFARSI beserta jajarannya yang telah memberikan dukungan morel dan materiel terhadap *e-journal* BIMFI.

Kami menyadari bahwa pentingnya jurnal sebagai sumber referensi terpercaya sangat esensial. Oleh karena itu, kami berharap *e-journal* BIMFI dapat memberi kebermanfaatan di bidang ilmu pengetahuan khususnya bidang kefarmasian serta berkontribusi dalam implementasi Tridharma Perguruan Tinggi. Sekian yang dapat saya sampaikan. Atas perhatian Bapak/Ibu saya ucapkan terima kasih..

#BIMFI2020-2022

#Goforthwrite

Wassalamualaikum Warahmatullahi Wabarakatuh.

Syafura Az-Zahra

STUDI *IN SILICO* SENYAWA BIOAKTIF KUERSETIN KULIT JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*) SEBAGAI AGEN ANTIKANKER PAYUDARA

Ivana Kinanti Kenyori^{1,a}, Maura Shavira Alamsyah¹, Cut Intan Ayu Nurjanah¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Yogyakarta, Indonesia

^aEmail Korespondensi : ivanakinanti5@gmail.com

ABSTRAK

Pendahuluan : Sel MCF-7 merupakan salah satu sel human breast adenocarcinoma yang sering digunakan untuk penelitian terkait kanker payudara manusia karena sel ini dianggap sebagai ciri-ciri epitel kelenjar payudara yang telah terdiferensiasi. Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) merupakan salah satu tanaman yang mengandung kuersetin terutama pada bagian kulit. Penelitian ini bertujuan untuk menggali potensi senyawa yang terkandung dalam kulit jeruk nipis yaitu kuersetin sebagai pengobatan kanker payudara dengan target sel MCF-7

Metode : Penelitian ini dilakukan secara *In silico* dengan metode penambatan molekuler menggunakan AutoDockTools dan visualisasi hasil docking menggunakan aplikasi PyMol dan LigPlot+

Hasil : Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa senyawa kuersetin yang terdapat pada kulit jeruk nipis dapat berpotensi sebagai antikanker payudara dengan nilai energi afinitas sebesar -8,2 kcal/mol.

Kesimpulan : Penelitian ini membuktikan bahwa senyawa kuersetin dalam kulit jeruk nipis merupakan salah satu kandidat obat kanker payudara baru. Diketahui bahwa hasil penelitian menunjukkan bahwa kuersetin memiliki ikatan yang lebih kuat dengan reseptor dibanding ligand aslinya. Selain itu, senyawa kuersetin juga memiliki interaksi dengan beberapa residu asam amino sehingga dapat memberikan bukti ilmiah bahwa senyawa kuersetin memiliki potensi sebagai antikanker payudara.

Kata Kunci : *Citrus aurantifolia*, kanker payudara, kuersetin, MCF-7, penambatan molekuler

ABSTRACT

Introduction : MCF-7 cells are one of the human breast adenocarcinoma cells that are often used for research related to human breast cancer, because these cells are considered as characteristics of differentiated breast gland epithelium. Lime (*Citrus aurantifolia*) is a plant that contains quercetin, especially in the peel. This study aims to explore the potential of compounds contained in lime peel, namely quercetin as a treatment for breast cancer with MCF-7 cell targets.

Methods : This research was conducted in *silico* with molecular docking method using AutoDockTools and visualization of docking results using PyMol and LigPlot+ software.

Results: The results of this study indicate that the compound quercetin contained in lime peel can be potential as an anticancer of the breast with an energy affinity value of -8.2 kcal/mol.

Conclusion: This study proves that the compound quercetin in lime peel is a candidate for a new breast cancer drug. It is known that research results show that quercetin has a stronger binding to the receptor than the original ligand. In addition, quercetin compounds also have interactions with several amino acid residues so that they can provide scientific evidence that quercetin compounds have potential as anticancer breasts.

Keywords : *Citrus aurantifolia*, breast cancer, quercetin, MCF-7, molecular docking

PENDAHULUAN

Kanker adalah penyakit yang disebabkan oleh pertumbuhan sel yang abnormal, tidak dapat dikendalikan, dan dapat merusak serta menyebar ke jaringan lain. Penyakit tidak menular ini ditandai dengan adanya benjolan yang semakin membesar di daerah tubuh tertentu¹. Salah satu jenis kanker yang berbahaya yaitu kanker payudara. Kanker payudara adalah penyakit yang terjadi akibat ketidakmampuan sel penyusun jaringan payudara dalam mengendalikan mekanisme kerja normalnya, sehingga terjadi proliferasi yang cepat dan tidak terkendali². Penyakit ini termasuk ke dalam golongan tumor ganas yang dapat menyebar dan berkembang di jaringan dekat payudara atau ke bagian organ lain. Jaringan yang berkembang secara tidak terkendali ini berasal dari epitel ductus maupun lobulusnya³. Bagian organ yang diserang yaitu bagian organ produktif (*parenchyma*). Kanker ini bisa mulai tumbuh dari kelenjar dan saluran susu, jaringan ikat, dan jaringan lemak pada payudara. Penyakit ini dapat berkembang menjadi lebih ganas jika bersentuhan dengan bahan kimia selain adanya kerusakan materi genetik⁴.

Menurut data GLOBOCAN (2018) kanker payudara ini bisa terjadi pada semua umur dan jenis kelamin dengan jumlah kasus sebanyak 2.088.849 di seluruh dunia dan tercatat sebanyak 626.679 jiwa yang mengalami kematian, di wilayah Asia Tenggara sendiri terdapat

137.514 kasus kanker payudara dengan angka kematian 50.935 jiwa. Pada tahun 2013, angka kejadian kanker payudara mengalami kenaikan dengan prevalensi tertinggi pada Provinsi Jawa Tengah dan Jawa Timur dengan masing-masing jumlah kasus secara berurutan 11.511 dan 6.688. Kanker payudara ini diperkirakan menjadi 15% penyebab kematian pada wanita dengan jumlah 627.000 jiwa⁵.

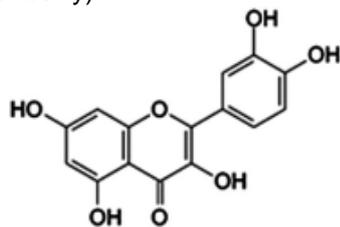
Citrus aurantifolia atau bisa disebut jeruk nipis merupakan jenis buah yang sering dimanfaatkan sebagai bahan pangan tradisional, bahan obat, dan kosmetik. Buah ini dapat mudah sekali ditemukan di lingkungan sekitar serta di semua iklim. *C. aurantifolia* ini memiliki kandungan antibakteri dan antioksidan yang tinggi terbukti dari penelitian-penelitian yang sudah ada. Kandungan antioksidan ini dihasilkan oleh senyawa-senyawa polifenol dan senyawa flavonoids spesifik yaitu hesperidin, quercetin, rutin, limonoids, tangeretin dan naringenin⁶.

Hesperidin, naringin, dan naringenin memiliki efek penghambatan proliferasi sel kanker dan menghambat tumorigenesis sebagai agen kemopreventif karsinogenesis. Rutin memiliki efek sebagai inhibitor kompetitif estrogen pada estrogen reseptor yang dapat menghambat proliferasi sel kanker payudara. Secara *in vitro*, tangeretin dapat menghambat terjadinya proliferasi



pada sel kanker payudara MDA-MB-435 dan MCF-7. Berdasarkan kandungan tersebut *C. aurantifolia* memiliki potensi sebagai penghambat karsinogenesis pada kanker payudara⁷.

Flavonoid merupakan senyawa fenolik yang dimana dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan, antibakteri, antiinflamatori. Kuersetin (3,3',4',5,7-pentahydroxyflavone) termasuk ke dalam flavonol (golongan flavonoid), diketahui untuk antiinflamatori, antihipertensi, efek vasodilator, antiobesitas, antihypercholesterolemic, dan aktivitas antiatherosclerotic. Senyawa ini banyak ditemukan di jeruk, sayuran berdaun hijau, kacang-kacangan, bunga, kulit kayu, brokoli, minyak zaitun, apel, bawang, teh hijau, anggur merah, dan buah beri (blueberry dan cranberry)⁸.



Gambar 1. Struktur kuersetin

Kuersetin memiliki sifat potensial antikanker sebagai antiproliferatif, menekan faktor pertumbuhan, dan antioksidan. Lalu dapat berpotensi memiliki sifat antikarsinogenik dan diketahui membantu sebagai induktor apoptosis dimana akan menurunkan pertumbuhan tumor di otak, liver, usus besar, dan jaringan lainnya, dan juga

menghambat penyebaran dari sel tumor ganas⁸.

Sel MCF-7 pertama kali diisolasi dari cairan pleura wanita yang berumur 69 tahun dengan penyakit metastatisnya. Secara luas, sel line MCF-7 dipelajari untuk kanker payudara manusia yang berdasarkan hormone⁹. Sel ini mengandung reseptor estrogen fungsional dan menunjukkan respon pleiotropik (gen yang mengontrol beberapa sifat fenotipik, seperti tinggi tubuh, warna tubuh) terhadap estrogen. Estrogen dapat menstimulasi proliferasi sel ini secara *in vitro*. Studi belakangan ini terungkap bahwa kuersetin dapat mencegah dan mengobati kanker dengan menghambat pertumbuhan dari sel kanker. Pada penelitian sebelumnya, kuersetin dengan dosis 50 μM / ml efektif dalam menekan kelangsungan hidup dan proliferasi dari sel MCF-7 dengan mengaktifasi jalur sinyal dari apoptosis dan nekroptosis¹⁰. Kuersetin secara efektif menghambat proliferasi sel melalui down-regulation Cyclin D1 yang mengurangi sifat tumorigenik sel MCF-7¹¹.

Sebelum dilakukan penelitian lebih jauh, dapat dilakukan *docking* terlebih dahulu. Molecular docking merupakan salah satu metode yang sangat penting dalam penemuan suatu obat. Pendekatan secara *molecular docking* dapat digunakan untuk model interaksi antara molekul kecil dan protein pada tingkatan atom, dimana dapat mengkaraterisasi

perilaku molekul kecil di lokasi ikat dari protein target serta untuk menjelaskan proses biokimia secara mendasar. Pada dasarnya, tujuan dari *molecular docking* untuk memberikan prediksi suatu struktur kompleks ligan-reseptor menggunakan metode komputasi. Beberapa metodologi yang digunakan dalam *docking*, yaitu *rigid ligand* dan *rigid receptor docking*, *Flexible ligand* dan *rigid receptor docking*, *Flexible ligand* dan *flexible receptor docking*¹². Molecular docking ini menghasilkan energi afinitas (Binding affinity), dimana hal tersebut merupakan parameter kestabilan konformasi antara ligan dan reseptor. Energi ikatan ikut andil dalam interaksi ligan dan reseptor, seperti interaksi hidrogen, interaksi hidrofobik, interaksi elektrostatik¹³.

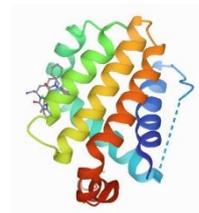
Pada penelitian ini, ditujukan untuk mengembangkan penelitian sebelumnya karena masih sedikit yang meneliti bahwa kulit jeruk nipis dapat berpotensi sebagai antikanker, sehingga dapat memperluas hasil penelitian yang sudah ada.

METODOLOGI PENELITIAN

Preparasi protein

Dalam penelitian ini digunakan struktur 3 dimensi protein sel kanker payudara MCF-7 (*Michigan Cancer Foundation-7*) yang diunduh dari situs www.pdb.org (PDB ID : 2W3L) dengan format .pdb. Protein yang diunduh tersebut tertaut dengan ligan asli berupa DRO dengan nama IUPAC 1-(2-((3S)-3-

(aminomethyl)-3,4-dihydroisoquinolin-2(1H)-yl]carbonyl}phenyl)-4-chloro-5-methyl-N,N-diphenyl-1H-pyrazole-3-carboxamide.



Gambar 2. Struktur 3D protein 2W3L

Oleh karena itu, protein perlu dipisahkan dari ligan aslinya serta dihapus molekul airnya sehingga yang tersisa hanya rantai protein. Pemisahan dilakukan menggunakan aplikasi DS Visualizer. Selanjutnya, protein dipreparasi menggunakan aplikasi AutoDock Tools yaitu dengan penambahan muatan dan atom hidrogen yang bersifat polar dan selanjutnya disimpan dengan format .pdbqt.

Preparasi Ligan

Ligan yang digunakan pada penelitian ini berupa ligan asli protein 2W3L yaitu DRO (1-(2-((3S)-3-(aminomethyl)-3,4-dihydroisoquinolin-2(1H)-yl]carbonyl}phenyl)-4-chloro-5-methyl-N,N-diphenyl-1H-pyrazole-3-carboxamide) dan senyawa kuersetin. Ligan asli didapatkan dari pemisahan dengan aplikasi DS Visualizer dengan cara penghapusan rantai protein dan molekul air sehingga hanya tersisa ligan aslinya. Selanjutnya, ligan ditambahkan muatan dan dihapuskan hidrogennya menggunakan aplikasi Autodock Tools. Ligan asli selanjutnya disimpan dalam format .pdbqt. Struktur ligan kuersetin

didapatkan dari situs www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov yang selanjutnya digambar menggunakan aplikasi Marvin Sketch dengan menyalin kode *Simplified Molecular Input Line Entry System* (SMILES) dan dioptimasi dengan *Clean 3D*. Ligan kuersetin kemudian disimpan dalam format .pdb dan dilakukan preparasi ligan menggunakan aplikasi Autodock Tools. Preparasi ligan uji kuersetin dilakukan dengan penambahan muatan dan penghapusan molekul hidrogen. Ligan uji kuersetin yang telah dipreparasi disimpan dalam format .pdbqt.

Validasi Metode Docking

Validasi metode docking dilakukan menggunakan aplikasi Autodock Vina dengan menambatkan kembali ligan asli DRO (1-(2-((3S)-3-(aminomethyl)-3,4-dihydroisoquinolin-2(1H)-yl)carbonyl)phenyl)-4-chloro-5-methyl-N,N-diphenyl-1H-pyrazole-3-carboxamide) dengan protein 2W3L.. Berkas yang akan digunakan dalam proses validasi *docking* harus berada dalam folder yang sama. Pada aplikasi Autodock Tools, dilakukan penyesuaian *grid box* dengan posisi berada di tengah ligan. Kemudian, nilai yang terdapat pada *grid box* disalin dalam file conf.txt yang memuat informasi docking. Selanjutnya, dilakukan penentuan nilai energi afinitas dan *Root Mean Square Deviation* (RMSD) menggunakan *Command Prompt Windows* (CMD). Konformasi yang dipilih adalah konformasi yang memiliki nilai RMSD <2 Å. Berkas

konformasi yang dipilih kemudian dipisahkan dan disimpan dalam folder yang sama.

Penambatan molekuler

Penambatan molekuler dilakukan menggunakan aplikasi AutoDock Vina dengan menambatkan molekul kuersetin dengan protein 2W3L.. Berkas yang akan digunakan dalam proses validasi *docking* harus berada dalam folder yang sama. Pada aplikasi AutoDockTools, dilakukan penyesuaian *grid box* dengan posisi berada di tengah ligan. Selanjutnya nilai yang terdapat pada *grid box* disalin dalam file conf.txt yang memuat informasi *docking*. Kemudian, dilakukan penentuan nilai energi afinitas dan *Root Mean Square Deviation* (RMSD) menggunakan *Command Prompt Windows* (CMD) dengan perintah berupa kode `vina.exe -config conf.txt -log log.txt` lalu ditekan tombol enter. Konformasi yang dipilih adalah konformasi yang memiliki nilai RMSD <2 Å. Berkas konformasi yang dipilih kemudian dipisahkan dan disimpan dalam folder yang sama.

Visualisasi hasil docking

Visualisasi hasil penambatan dilakukan menggunakan aplikasi PyMol dan LigPlot+. Aplikasi PyMol digunakan untuk membantu visualisasi interaksi ligan dengan asam amino secara tiga dimensi sedangkan aplikasi LigPlot+ digunakan untuk membantu visualisasi interaksi ligan dengan asam amino secara dua dimensi.



HASIL

Validasi Metode *Docking*

Dari proses validasi yang telah dilakukan, didapatkan 1 konformasi ligand DRO yang terbaik dengan nilai RMSD dan energi afinitas masing-masing sebesar 1,403 dan -7,7 kcal/mol. Metode *docking* dapat dikatakan valid apabila menghasilkan nilai RMSD <2 Å. Oleh karena itu, berdasarkan hasil validasi, metode *docking* ini valid dan dapat dipercaya.

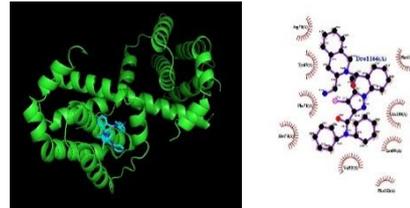
Penambatan Molekuler

Tabel 1. Hasil penambatan kuersetin dengan protein 2W3L

Konformasi	Afinitas (kcal/mol)	Nilai RMSD
1	-8.5	0
2	-8.2	1.942
3	-8	2.001
4	-7.8	2.195
5	-7.7	14.819
6	-7.7	4.493
7	-7.5	3.306
8	-7.5	5.035
9	-7.4	36.135

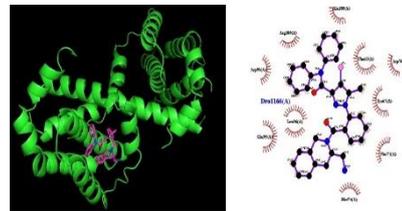
Visualisasi Hasil Penambatan

Hasil visualisasi penambatan ligand asli (DRO) dengan protein 2W3L menunjukkan adanya interaksi antara ligand dengan residu asam amino yaitu Asp70A, Tyr67A, Phe71A, Met74A, Phe63A, Phe112A, Ala108A, Leu96A, dan Val192A. Namun, pada penambatan tidak terdapat ikatan hidrogen. Visualisasi interaksi dapat dilihat pada gambar 3.



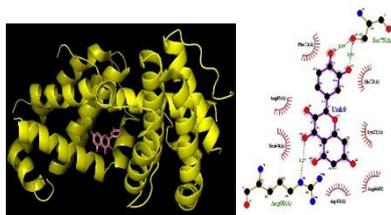
Gambar 3. Visualisasi 3D dan 2D penambatan ligand asli (DRO) terhadap protein 2W3L

Hasil visualisasi penambatan ligand asli (DRO) konformasi terbaik dengan protein 2W3L juga menunjukkan adanya interaksi antara ligand dengan beberapa residu asam amino yaitu Ala108A, Arg105A, Asp99A, Leu96A, Glu95A, Met74A, Phe74A, Phe 63A Tyr67A, Asp70A. Pada penambatan ini juga tidak terdapat ikatan hidrogen. Hasil visualisasi terlihat pada gambar 4.



Gambar 4. Visualisasi 3D dan 2D penambatan ligand asli (DRO) hasil docking terhadap protein 2W3L

Dari hasil visualisasi penambatan senyawa kuersetin terhadap protein 2W3L, dapat terlihat bahwa ligand senyawa kuersetin berinteraksi dengan beberapa residu asam amino yaitu Phe71A, Arg65A, Arg66B, Asp61A, Ala72A, Ser64A, Lys22A. Selain itu, juga terbentuk 3 ikatan hidrogen yaitu dengan residu asam amino Ser75A, Ser75A dan Arg68A dengan panjang ikatan masing-masing 2,98 Å, 2,99 Å dan 3,27 Å. Hasil visualisasi terlihat pada gambar 5.



Gambar 5. Visualisasi penambatan kuersetin terhadap protein 2W3L

Tabel 2. Hasil interaksi ligand dengan protein 2W3L

Ligand	Ikatan Hidrofobik	Ikatan Hidrogen
DRO	Asp70A, Tyr67A, Phe71A, Met74A, Phe63A, Phe112A, Ala108A, Leu96A, Val192A	-
DRO hasil docking	Ala108A, Arg105A, Asp99A, Leu96A, Glu95A, Met74A, Phe74A, Phe 63A Tyr67A, Asp70A	-
Kuersetin	Phe71A, Arg65A, Arg66B, Asp61A, Ala72A, Ser64A, Lys22A	Ser 75A (2.99 Å) Ser 75A (2.98 Å) Arg68A (3.27 Å)

PEMBAHASAN

Sebelum dilakukan penambatan ligan uji terhadap protein, dilakukan validasi metode *docking*. Validasi metode *docking* dilakukan untuk mengonfirmasi reabilitas metode *docking* yang digunakan. Pada validasi metode *docking*, parameter yang diamati adalah *root mean square deviation* (RMSD).

RMSD adalah jarak penyimpangan antara posisi ikatan ligan yang sudah melalui tahap *docking* dengan posisi ikatan ligan asli yang sebenarnya¹⁴. Metode *docking* dapat dikatakan valid apabila diperoleh nilai RMSD <2 Å¹⁵. Semakin besar nilai RMSD yang diperoleh semakin menjauh (menyimpang) juga posisi ligan hasil *docking* dengan ligan aslinya¹⁶. Oleh karena itu, berdasarkan hasil penelitian, metode *docking* ini dapat dinilai valid dan dapat dipercaya karena menghasilkan nilai RMSD sebesar 1,403.

Potensi suatu senyawa sebagai obat dapat dilihat dari hasil penambatan molekul. Dalam melakukan *docking*, diperlukan tahap penentuan *gridbox*. *Gridbox* ini membentuk seperti kubus dimana akan menentukan lokasi reseptor yang akan berikatan atau bertambatan oleh suatu ligan berdasarkan titik koordinat berupa x, y dan z. Hal ini bertujuan untuk mengetahui susunan atau konformasi dengan energi yang paling rendah dari ligan tersebut^{17,18}. Oleh karena itu hasil *docking* yang bagus dapat dilihat dari parameter afinitas ikatan (*binding affinity*) yang dihasilkan. Afinitas ikatan dapat menggambarkan aktivitas molekul ligan dan reseptor. Semakin kecil afinitas ikatan, maka semakin kuat ikatan antara ligan dan reseptor^{19,20}. Selain itu, hasil *docking* juga dipengaruhi oleh energi ikatan dimana sebagai parameter kestabilan konformasi antara ligan dan reseptor. Interaksi antara ligan dan reseptor yang

kuat cenderung pada keadaan energi terendah, dan dalam keadaan tersebut molekul akan lebih stabil, sehingga semakin kecil energi ikatan maka interaksi antara ligan dan reseptor semakin stabil¹³.

Pada penelitian ini, diperoleh 9 konformasi struktur dengan hasil RMSD dan afinitas yang berbeda. Nilai afinitas dan RMSD terendah diperoleh dari konformasi ke-2 dengan nilai -8.2 kcal/mol dan 1.945. Walaupun terdapat nilai afinitas yang lebih kecil, yaitu di konformasi ke-1 sebesar -8.5, namun memiliki nilai RMSD yang kecil, yaitu 0. Jika nilai RMSD 0, maka tidak ada perubahan atau penyimpangan dengan jarak ligan asli sebelumnya (DRO). Oleh sebab itu, dipilih konformasi ke-2 sebagai konformasi terbaik. Lalu, diperoleh nilai afinitas dan nilai RMSD pada ligan asli (DRO) masing-masing sebesar -7.7 kcal/mol dan 1.403. Jika membandingkan hasil nilai afinitas dari kuersetin dan ligan asli (DRO), kuersetin menghasilkan nilai afinitas yang lebih rendah dari ligan asli (DRO). Maka dari itu, kuersetin memiliki ikatan yang lebih kuat terhadap reseptor dibandingkan dengan DRO.

Visualisasi *docking* merupakan suatu metode untuk melihat bagaimana interaksi hasil penambatan antara ligan pembanding dengan ligand uji yang dipakai. Visualisasi ini mampu memperlihatkan bagaimana interaksi antara residu asam amino dengan ligan¹⁷. Interaksi yang terjadi dapat

berupa ikatan nonkovalen, seperti elektrostatis, interaksi *Van der Waals*, ikatan hidrogen, dan ikatan hidrofobik. Ikatan hidrogen merupakan ikatan yang terjadi akibat adanya gaya tarik menarik atom hidrogen dengan atom lain yang keelektronegatifannya besar pada suatu molekul. Ikatan hidrogen merupakan ikatan yang paling kuat diantara ikatan lainnya. Sedangkan ikatan hidrofobik memiliki peran yang penting dalam kestabilan ligan terhadap reseptor. Ikatan hidrofobik adalah ikatan yang cenderung menghindari lingkungan yang bersifat cair dan berkelompok di bagian dalam struktur protein untuk meminimalkan interaksi dengan air yang dapat mengakibatkan kerusakan struktur protein²¹²². Berdasarkan hasil penelitian, ligan asli (DRO) berinteraksi hidrofobik dengan 9 asam amino yaitu Asp70A, Tyr67A, Phe71A, Met74A, Phe63A, Phe112A, Ala108A, Leu96A, dan Val192A, sementara ligand asli yang telah melalui proses docking berinteraksi secara hidrofobik dengan 10 residu asam amino yaitu Ala108A, Arg105A, Asp99A, Leu96A, Glu95A, Met74A, Phe74A, Phe 63A Tyr67A, Asp70A. Pada keduanya, tidak ditemukan adanya ikatan hydrogen. Senyawa kuersetin berikatan secara hidrofobik dengan 7 residu asam amino yaitu Phe71A, Arg65A, Arg66B, Asp61A, Ala72A, Ser64A, dan Lys22A. Selain itu, terdapat 3 ikatan hydrogen antara kuersetin dengan residu asam amino Ser75A, Ser75A dan Arg68A dengan panjang ikatan masing-masing 2,98 Å,



2,99 Å dan 3,27 Å. Banyaknya ikatan/interaksi yang terbentuk antara kuersetin dengan protein sel kanker dapat dijadikan indikator bahwa kuersetin memiliki kemampuan untuk menjadi agen antikanker²³.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa senyawa kuersetin memiliki energi afinitas yang lebih rendah dibanding ligan asli (DRO) dengan nilai masing-masing -8,2 kcal/mol dan -7,7 kcal/mol yang menandakan bahwa kuersetin dapat berikatan lebih kuat dengan reseptor dibanding ligan aslinya. Senawa kuersetin dapat berinteraksi secara hidrofob dengan 7 residu asam amino. Sekain itu, terdapat 3 ikatan hidrogen dengan residu asam amino Ser75A, Ser75A dan Arg68A dengan panjang ikatan masing-masing 2,98 Å, 2,99 Å dan 3,27 Å sehingga dapat dikatakan bahwa kuersetin memiliki kemampuan untuk menjadi agen antikanker payudara.

SARAN

Penulis menyarankan untuk penelitian selanjutnya agar dilakukan penelitian sejenis terhadap sel kanker lain serta memperluas penelitian terkait aktivitas antikanker kuersetin terhadap sel MCF-7.

DAFTAR PUSTAKA

1. Brilliana A, Arafah R, Notobroto HB, et al. Faktor Yang Berhubungan dengan Perilaku Ibu Rumah Tangga Melakukan

Pemeriksaan Payudara Sendiri (SADARI). *The Indonesian Journal of Public Health*. 2017;12. doi:10.20473/ijph.v12i1.2017.143-153

2. Sinaga C. F AT. Hubungan Pengetahuan Dan Sikap Remaja Putri Tentang Deteksi Dini Kanker Payudara Melalui Periksa Payudara Sendiri di Sma Pasundan 8 Bandung Tahun 2016. *Kartika-Jurnal Ilmiah Farmasi*. . Published online 2016.
3. Kesehatan K, Penanggulangan K, Nasional K. *KANKER PAYUDARA*.; 2016.
4. Snae SG. *Karya Tulis Ilmiah Proses Asuhan Gizi Terstandar (PAGT) Pada Pasien Kanker Payudara Di Ruang Rawat Inap RSUD Prof. Dr. W. Z JOHANNES*.; 2019.
5. Pangribowo S. *Beban Kanker Di Indonesia*; 2019.
6. Mahyuni S. Determinasi Kadar Total Polifenol Terlarut, Hesperetin Dan Quercetin Pada Daun, Kulit Dan Isi Buah Citrus aurantifolia(Christm & Panzer) Swingle. *Fitofarmaka*. 2016;6.
7. Pratiwi D, Hastuti N, Nur W N, et al. Potensi Ekstrak Etanolik Kulit Buah Jeruk Nipis (Citrus aurantiifolia (Cristm.) Swingle) Sebagai Agen Khemopreventif Melalui Penekanan Ekspresi c-Myc dan Penghambatan Proliferasi Pada Sel Payudara Tikus Galur Spraguedawley terinduksi 7,12-Dimetilbenz[a]Antrasen. *Majalah Obat Tradisional*. Published online 2010.
8. Anand David AV, Arulmoli R, Parasuraman S. Overviews of biological importance of quercetin: A bioactive flavonoid. *Pharmacognosy Reviews*. 2016;10(20):84-89. doi:10.4103/0973-7847.194044
9. Comşa Ş, Cîmpean A M, Raica M. The Story of MCF-7 Breast Cancer Cell Line: 40 years of Experience in Research. *Anticancer Research*. Published online 2015.



10. Khorsandi L, Orazizadeh M, Niazvand F, Abbaspour MR, Mansouri E, Khodadadi A. Quercetin Induces Apoptosis and Necroptosis in MCF-7 breast cancer cells. *Bratislava Medical Journal*. 2017;118(2):123-128. doi:10.4149/BLL_2017_025
11. Ranganathan S, Halagowder D, Sivasithambaram ND. Quercetin suppresses twist to induce apoptosis in MCF-7 breast cancer cells. *PLoS ONE*. 2015;10(10). doi:10.1371/journal.pone.0141370
12. Meng XY, Zhang HX, Mezei M, Cui M. *Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery.*; 2011.
13. Ambarsari L, Sumaryada TI. *Simulasi Docking Senyawa Kurkumin Dan Analognya Sebagai Inhibitor Reseptor Androgen Pada Kanker Prostat.*; 2014.
14. Rastini MBO, Giantari NKM, Adnyani KD, Laksmiani NPL. Molecular Docking Aktivitas Antikanker Dari Kuersetin Terhadap Kanker Payudara Secara In Silico. *Jurnal Kimia*. Published online July 31, 2019:180. doi:10.24843/jchem.2019.v13.i02.p09
15. Mylanda V, Ramadhan NE, Viviani RN. Studi Penambatan Molekuler Senyawa Bioaktif Biji Habbatussauda(Nigella sativa) Terhadap Erasebagai Alternatif Pengobatan Kanker Payudara Dalam Upaya Pemberian Data Ilmiah Thibbun Nabawi. *BIMFI*. 2021;8(2).
16. Suherlan S, Rohayah R, Fakhir TM. Uji Aktivitas Antikanker Payudara Senyawa Andrografolida Dari Tumbuhan Sambiloto (Andrographis paniculata (Burm F) Ness.) Terhadap Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER-2) Secara In Silico. *Jurnal Ilmiah Farmasi Farmasyifa*. 2021;4(2):39-50. doi:10.29313/jiff.v4i2.7784
17. Sari IW, Junaidin J, Pratiwi D. Studi Molecular Docking Senyawa Flavonoid Herba Kumis Kucing (Orthosiphon stamineus B.) Pada Reseptor A-Glukosidase Sebagai Antidiabetes Tipe 2. *Jurnal Farmagazine*. 2020;7(2):54. doi:10.47653/farm.v7i2.194
18. Rachmania RA, Supandi, Larasati OA. Analisis In-Silico Senyawa Diterpenoid Lakton Herba Sambiloto (Andrographis paniculata Nees) Pada Reseptor Alpha-Glukosidase sebagai Antidiabetes Tipe II. *PHARMACY*. 2015;12.
19. Hanif AU, Lukis PA, Fadlan A. Pengaruh Minimisasi Energi MMFF94 dengan MarvinSketch dan Open Babel PyRx pada Penambatan Molekuler Turunan Oksindola Tersubstitusi. *ALCHEMY: JOURNAL OF CHEMISTRY* . 2020;8(2):33-40. <https://chemaxon.com>
20. IEEE Staff. *2017 European Conference on Circuit Theory and Design (ECCTD)*. IEEE; 2017.
21. Patrick GL. *An Introduction to Medicinal Chemistry.*; 2012.
22. Lins L, Brasseur R. The hydrophobic effect in protein folding. *The FASEB Journal*. 1995;9(7):535-540. doi:10.1096/fasebj.9.7.7737462
23. Lelita R, Gunawan R, Astuti Jurusan Kimia W, Mulawarman Jalan Barong Tongkok No U, Gunung Kelua Samarinda K, Timur K. Studi Docking Molekuler Senyawa Kuersetin, Kalkon Dan Turunannya Sebagai Inhibitor Sel Kanker Payudara MC-7 (MICHIGAN CANCER FOUNDATION-7) Molecular Docking Studies Quercetin, Chalcone And Its Derivate Inhibitor To Breast Cancer Cells MCF-7 (MICHIGAN CANCER FOUNDATION-7). *Jurnal Atomik*. 2017;01(2). www.pdb.org.

ANALISIS *IN SILICO* PENCEGAHAN PENUAAN KULIT MELALUI PENGHAMBATAN *CELLULAR SENESENCE* TERTARGET INHIBISI CD36 OLEH SENYAWA AKTIF *CINNAMOMUM ZEYLANICUM*

Putri Anggraini Budianto¹, Novia Permata Hapsari¹, Dhiya Ulhaq Salsabila¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

^aEmail Korespondensi : putrianggraini@mail.ugm.ac.id

ABSTRAK

Pendahuluan: Peningkatan ROS (*Reactive Oxygen Species*) dan SASP (*Senescence Associated Secretory Phenotype*) merupakan penyebab penuaan kulit dengan mekanisme penuaan sel. CD36 (*Cluster Difference 36*) mengalami overekspresi pada sel yang menua dan menerima aktivator penyebab produksi ROS dan SASP. Kayu manis (*Cinnamomum zeylanicum*) mempunyai berbagai aktivitas farmakologis seperti antioksidan. Namun, aktivitas anti penuaan sel oleh kayu manis pada CD36 belum diketahui. Penelitian ini ingin menunjukkan senyawa kayu manis efektif dalam menghambat CD36 dan mengurangi penuaan kulit berlebih lewat penghambatan penuaan sel.

Metode: Studi literatur dan pendekatan *in silico* seperti pencarian database, *molecular docking*, dan aplikasi analisis KNIME digunakan dalam penelitian ini.

Hasil: *Cinnamaldehyde* terbukti menjadi inhibitor kompetitif CD36 yang lebih baik dari ligan asli dan inhibitor yang sudah ada (RMSD: 0,74 Å; S: -7,43 kcal/mol, skor DICE: 0,886; Skor Tanimoto: 0,939). Studi bioinformatika juga menunjukkan bahwa senyawa dominan pada kayu manis menarget regulator CD36, oksidoreduktase, dan reseptor produsen SASP yang koekspresi dengan CD36.

Kesimpulan: Senyawa pada kayu manis diprediksi dapat mencegah penuaan kulit dengan menghambat dan meregulasi CD36, serta meminimalisir faktor penyebab penuaan.

Kata kunci: *Cellular senescence*, penuaan kulit, *in silico*, CD36, *Cinnamomum zeylanicum*.

ABSTRACT

Introduction: Increased ROS (*reactive oxygen species*) and SASP (*senescence-associated secretory phenotype*) lead to skin aging via cellular senescence. CD36 (*Cluster Difference*

36) is found overexpressed in senescent cells and accepts various activators that generate ROS and SASP. Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) has been known to exert several pharmacological effects like antioxidant and anti-senescence. However, its anti-senescence effect on CD36 has not been reported yet. This study aims to prove that cinnamon's compounds are effective to inhibit CD36 in order to stop skin aging caused by senescence.

Methods: Literature studies and *in silico* approaches such as database searching, molecular docking, and KNIME open analytic platform were used in this study.

Result: *Cinnamaldehyde* is proven as a better competitive CD36 inhibitor (DICE Score: 0,886; Tanimoto Score: 0,939) with better affinity than native ligand and previously studied inhibitors (RMSD: 0,74 Å; S: -7,43 kcal/mol). Bioinformatics investigations also showed that major compounds of cinnamon target CD36 regulator, oxidoreductases, and SASP-producing receptors that co-expressed with CD36.

Conclusion: Active components of cinnamon are potential to be an anti skin aging by inhibiting CD36, regulating CD36, and eradicating senescent factors.



Keywords: Cellular senescence, skin aging, *in silico*, CD36, *Cinnamomum zeylanicum*.

PENDAHULUAN

Cellular senescence atau penuaan pada sel adalah tahapan pada siklus sel yang mana sel tidak bisa bertumbuh dan menjalankan fungsinya [1]. Akumulasi berlebihan dari sel yang mengalami penuaan menyebabkan penuaan dini, terutama pada kulit [2,3,4]. Adapun penyebab utama penuaan sel adalah produksi spesies oksigen reaktif (ROS) berlebih akibat polusi paparan sinar UV, akumulasi lipid berlebih, dan akumulasi SASP (*Senescence Associated-Secretory Phenotype*) [5,6].

Satu-satunya obat pencegah penuaan sel secara umum yang terdaftar di *Food and Drug Administration* (FDA) adalah Rapamycin [7]. Rapamycin menghambat kompleks protein mTOR mengurangi penuaan dengan mengontrol metabolisme mitokondria dan translasi protein pendukung penuaan sel [8]. Namun, penghambatan mTOR dalam jangka panjang menimbulkan resistensi insulin [9]. Selain itu, umumnya digunakan retinol untuk mencegah penuaan kulit secara lokal, tetapi retinol rentan menyebabkan iritasi pada kulit [10]. Dengan demikian, pengembangan obat dan target baru untuk antipenuaan pada kulit dengan mekanisme pencegahan *cellular senescence* masih dibutuhkan.

Cluster Difference 36 (CD36) adalah protein reseptor membran sel yang dapat menerima berbagai aktivator. Jika

aktivator terikat pada CD36, maka terjadi produksi ROS berlebihan dan umpan balik positif berupa overekspresi CD36 [11,12]. Overekspresi CD36 akan meningkatkan ekspresi SASP yang terlibat dalam produksi ROS dan kembali memicu overekspresi CD36 [13]. Oleh karena itu, diperlukan penghambat (inhibitor) CD36 dengan aktivitas antioksidan sehingga jumlah ROS yang sudah ada dapat ditekan dan tidak terjadi inisiasi SASP yang menyebabkan *cellular senescence* berlebihan tidak terjadi.

Kayu manis (*Cinnamomum zeylanicum* Linn.) mengandung senyawa kimia yang mempunyai efek antioksidan dan anti-*senescence* pada *stem cell* [14,15]. Maka dapat dikatakan kayu manis memiliki peluang untuk menjadi agen antipenuaan sel yang memiliki aktivitas antioksidan. Namun, sejauh ini belum ada penelitian yang menyorot tentang aktivitas senyawa aktif kayu manis pada protein CD36 untuk menghambat penuaan sel, terkhusus pada penuaan sel kulit.

Pengujian *in silico* (pendekatan komputasi) diperlukan untuk menyeleksi senyawa aktif kayu manis mana yang paling baik untuk menghambat CD36 dan membandingkan aktivitasnya dengan inhibitor yang sudah ada. Dari hasil analisis *in silico*, diharapkan senyawa aktif kayu manis memiliki



aktivitas inhibisi lebih baik dari inhibitor poten CD36 yang sudah ada sehinggameningkatkan daya guna kayu manis sebagai alternatif lain obat untuk menghambat penuaan sel kulit berlebih melalui penghambatan *cellular senescence*.

METOLOGI PENELITIAN

Studi Pustaka dan Pengumpulan Data

Studi pustaka dilakukan dari jurnal terindeks Scopus dengan kata kunci *Cinnamomum zeylanicum*, kayu manis, CD36, *Cellular Senescence*, dan anti *senescence*. Data struktur protein CD36 dikumpulkan dari database PDB, diunduh, dan disimpan dalam format “.pdb”. Data struktur SMILES dan IC₅₀ senyawa inhibitor CD36 yang sudah ada dikumpulkan melalui pangkalan data ChEMBL. Senyawa aktif kayu manis dan analisis metabolit sekunder dicari dengan studi literatur, data ekspresi dan profil CD36 pada sel yang mengalami penuaan dicari dari CellAge, GeneCards, dan ProteinAtlas. Semua data diunduh dan disimpan dalam format “.csv”. Adapun data dari ProteinAtlas divisualisasikan kembali dengan aplikasi GraphPad 9.0.

Analisis *Prediction Score* dan Kesamaan Struktur dengan KNIME

Dari data ChEMBL, dicari senyawa inhibitor CD36 yang sudah diteliti dengan IC₅₀ terkecil, kemudian dibuat pemodelan inhibisi pada KNIME untuk perhitungan *prediction score*. Struktur SMILES senyawa aktif kayu manis

diinput dan dilihat *prediction score* paling tinggi. Struktur SMILES senyawa kayu manis dengan *prediction score* tertinggi kemudian diubah menjadi *fingerprint* untuk prediksi kesamaan struktur dengan inhibitor CD36 yang sudah dicari IC₅₀ yang paling kecil dalam rangka mengetahui arah aktivitasnya. Adapun nodus yang digunakan adalah alur kerja TeachOpenCADD [16].

Perbandingan Interaksi dan Aktivitas Senyawa Aktif *Cinnamomum zeylanicum* terhadap CD36 dan Inhibitor yang Sudah Diteliti

Interaksi antara CD36 dengan senyawa aktif kayu manis dianalisis dengan *molecular docking* menggunakan perangkat lunak Molecular Operating Environment (MOE) versi 2010.10 dengan lisensi dari Fakultas Farmasi UGM. *Docking* dilakukan sesuai dengan pengaturan bawaan dan beberapa pengaturan yang diadaptasi dari penelitian lain [17]. Struktur CD36 dicari dari database PDB dalam format PDB dan di-*docking* dengan pengaturan *docking* protein- ligan. Protein CD36 (PDB ID: 5LGD) dipersiapkan sebagai target dengan cara menghilangkan molekul air (HOH), menghilangkan domain PfEMP serta menambahkan proton [18]. Senyawa dibentuk dari *SMILES code* dan diminimalkan energinya menggunakan *MMFF94 force field*. Protokol *docking* meliputi *triangle matcher*, *forcefield*, dan *London dG* sebagai pengaturan *placement*, *refinement*, dan *scoring mode* secara



berturut-turut. Analisis interaksi dilakukan terhadap konformasi senyawa dengan skor *docking* terendah. Selanjutnya, dicari skor *docking* tertinggi, dicari domain interaksi, dan dilihat jenis interaksinya dengan protein CD36 dengan menu *Ligand Interaction*.

Penjabaran Mekanisme

Aktivitas Antipenuaan, Analisis Data, dan Visualisasi

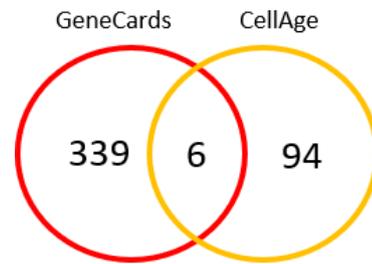
Dilakukan analisis data dan visualisasi dari InteractiVenn, GraphPad, dan studi literatur. Proses analisis data dilakukan dengan mengiriskan gen target senyawa kayu manis dan gen yang overekspresi pada sel mengalami penuaan dengan harapan didapatkan irisan target potensial senyawa di kayu manis pada sel yang mengalami penuaan. Nantinya dengan studi literatur dan STRING, akan dipelajari lebih lanjut peran-peran gen tersebut. Studi literatur dilakukan dari jurnal terindeks SCOPUS dengan kata kunci *cinnamaldehyde*, *eugenol*, *camphor*, *CD36*, dan *senescence*.

HASIL

Ekspresi Protein CD36 pada Sel Kulit yang Mengalami Penuaan

Dilakukan pencarian gen yang mengalami overekspresi pada sel yang mengalami penuaan sel dari dua pangkalan data: GeneCards dan CellAge. Dari pangkalan data GeneCards diambil 393 gen yang mengalami overekspresi pada kulit (skor relevansi lebih besar dari kuartil atas sebesar 8,43), sedangkan dari CellAge,

diambil 100 besar gen yang mengalami overekspresi pada sel yang mengalami

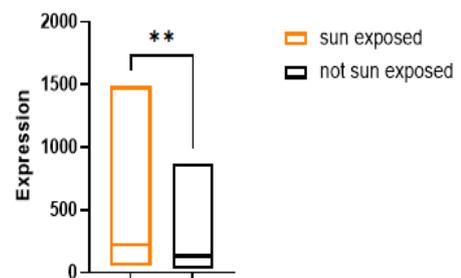


penuaan secara keseluruhan. Hasilnya, CD36 termasuk gen yang mengalami ekspresi berlebihan pada sel yang mengalami penuaan.

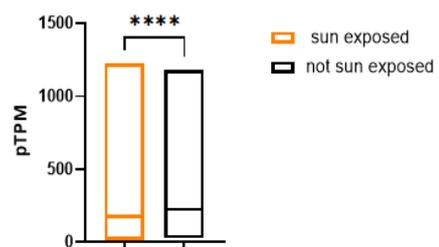
Gambar 1. Irisan gen yang overekspresi dari pangkalan data CellAge dan GeneCards.

Data dari ProteinAtlas menunjukkan bahwa CD36 terekspresi berlebih secara signifikan ketika terkena sinar UV seperti pada gambar 2 dan 3.

CD36 Expression in Female Skin Tissues

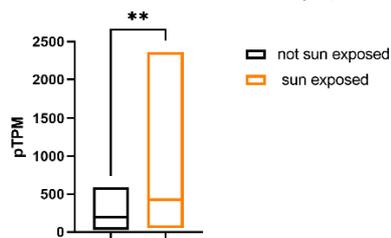


CD36 Expression in Male Skin Tissues

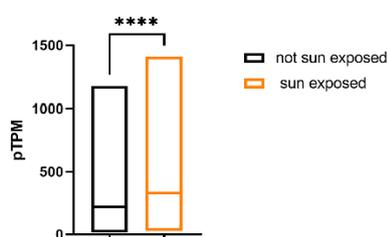


Gambar 2. Diagram batang ekspresi CD36 di sel keratinosit basal kulit sebelum dan sesudah terekspos sinar UV pada pria ($P < 0,001$) dan wanita ($P < 0,05$) dari pangkalan data ProteinAtlas.

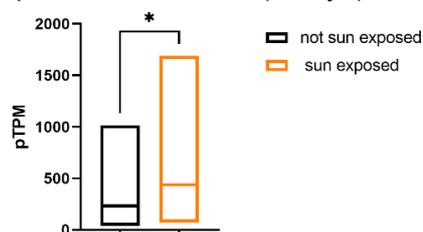
CD36 Expression in Skin Tissues (30-39 yrs)



CD36 Expression in Skin Tissues (50-59 yrs)



CD36 Expression in Skin Tissues (70-79 yrs)



Gambar 3. Diagram batang ekspresi CD36 di sel keratinosit basal kulit sebelum dan sesudah terekspos sinar UV pada kelompok umur 30-39 ($P < 0,05$); 50-59 ($P < 0,001$) dan 70-79 tahun ($P < 0,02$) dari pangkalan data ProteinAtlas.

Dari diagram batang, ekspresi CD36 meningkat signifikan pada pria dan wanita. Selain itu, menaikkan ekspresi CD36 akibat sinar UV signifikan seiring dengan menuanya usia sehingga CD36 dapat dijadikan target antipenuaan sel yang potensial.

Data Inhibitor CD36

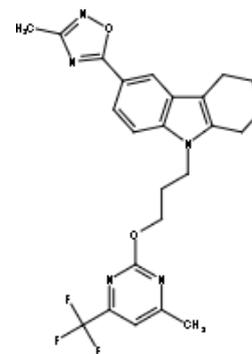
Inhibitor CD36 diperoleh dari pangkalan data ChEMBL (pangkalan data terkurasi yang memuat data molekul bioaktif yang memiliki sifat farmakologis dan informasi mekanisme kerja senyawa tersebut).

Data yang didapatkan dari proses pengurutan kekuatan inhibitor yang sudah ada tercantum dalam tabel 1.

Tabel 1. Inhibitor dari database ChEMBL yang sudah ada beserta kekuatannya

Senyawa	IC ₅₀	Publikasi
ChEMBL 2179501	1,5 nM	Mittapalli dkk, 2012
ChEMBL 2179106	5,0 nM	Mittapalli dkk, 2012
ChEMBL 2179497	5,0 nM	Mittapalli dkk, 2012

Dari pengurutan yang telah dilakukan, diketahui senyawa yang paling poten menghambat CD36 adalah senyawa turunan oxadiazole yang memiliki nama IUPAC 3- methyl-5-[9-[3- [4-methyl-6-(trifluoromethyl)pyrimidin-2-yl]oxypropyl]-5,6,7,8-tetrahydrocarbazol-3-yl]-1,2,4-oxadiazole (ChEMBL 2179501) dengan nilai IC₅₀ sebanyak 1,5 nM.



Gambar 4. Struktur ChEMBL 2179501 yang didapat dari pangkalan data PubChem

Inhibitor CD36 yang sudah ada contohnya ChEMBL 2179501 yang hanya menghambat CD36 saja dan tidak menarget gen regulator CD36 [19]. Oleh karena itu masih ada kemungkinan CD36 untuk tereksresi berlebihan.

Potensi Senyawa Aktif pada Kayu Manis dalam Menginhibisi Protein CD36

Senyawa dominan pada kayu manis yaitu *cinnamaldehyde*, eugenol serta *camphor* pada daunnya diujikan potensi inhibisinya dengan pemodelan IC_{50} pada aplikasi KNIME untuk menemukan

prediksi aktivitas inhibisi dari senyawa-senyawa tersebut. *Machine learning random forest* digunakan untuk melakukan prediksi potensi senyawa kayu manis dalam menghambat CD36 yang hasilnya tercantum pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil analisis data skor prediksi penghambatan dari aplikasi KNIME dengan *machine learning random forest*.

Senyawa	Prediction	Prediction Confidence
<i>Cinnamaldehyde</i>	1,00	0,93
Eugenol	1,00	0,82
<i>Camphor</i>	1,00	0,72

Investigasi *machine learning random forest* menunjukkan bahwa diantara senyawa lain, *cinnamaldehyde* memiliki korelasi dan kekuatan tertinggi yang menunjukkan bahwa *cinnamaldehyde* paling sesuai dengan model inhibisi CD36 yang sudah dibuat. Dengan kata lain, aktivitas *cinnamaldehyde* pada CD36 adalah aktivitas inhibisi, bukan mengaktivasi CD36.

Perbandingan Aktivitas Senyawa Aktif Kayu Manis terhadap CD36 dan Inhibitor yang Sudah Diteliti

Dilakukan pencarian arah aktivitas

cinnamaldehyde (senyawa dengan prediksi tertinggi untuk menghambat CD36) dengan aplikasi KNIME dan aktivitas inhibisi yang mungkin terjadi antara *cinnamaldehyde* dengan protein CD36 dengan simulasi *molecular docking* dengan *software* MOE (lisensi dari Fakultas Farmasi UGM). Arah aktivitas CD36 oleh *cinnamaldehyde* diketahui dengan membandingkan struktur *cinnamaldehyde* dengan inhibitor yang diketahui dari pangkalan data ChEMBL yaitu ChEMBL 2179501. Hasilnya dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Skor tanimoto dan *DICE* senyawa *cinnamaldehyde* dengan aplikasi KNIME

Senyawa	Skor Tanimoto	Skor DICE
<i>Cinnamaldehyde</i>	0,886	0,939

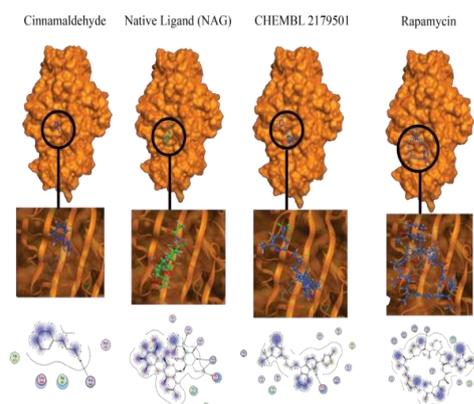
Selanjutnya, dilakukan *docking* antara *cinnamaldehyde* dan CD36. *Native ligand* protein CD36, NAG (N-Asetilglukosamin), dibuat sebagai

pembandingan. Selain NAG, digunakan juga inhibitor CD36 yang ditemukan dari ChEMBL dan Rapamycin sebagai obat antipenuaan yang sudah ada.



Visualisasi interaksi semua senyawa dapat dilihat pada gambar 5 dan tabel 4.

Gambar 5. Visualisasi *Molecular Docking* menggunakan aplikasi MOE.



Tabel 4. Interaksi molekuler *native ligand*, *cinnamaldehyde*, inhibitor ChEMBL 219501, dan Rapamycin dengan CD36. Interaksi dilihat pada aplikasi MOE

Senyawa	Skor <i>Docking</i> (kcal/mol)	RMSD (Å)	Asam Amino
Cinnamaldehyde	-7,43	0,87	ARG 386
NAG	-5,76	1,93	GLN 64, ASN 417, ARG 386, GLU 366
ChEMBL 2179501	-5,79	1,77	GLU 366
Rapamycin	-5,67	1,68	ARG 386

Keterangan tabel: ARG : Arginin; GLN : Glisin; ASN : Asparagin ; GLU : Glutamin. RMSD : *Root Mean Square Deviation*.

Menurut gambar 5 dan tabel 4, hasil *molecular docking* juga menunjukkan aktivitas inhibisi *cinnamaldehyde*. *Cinnamaldehyde* mempunyai afinitas yang jauh lebih kuat dan energi (ditunjukkan dengan skor *dock*) yang dibutuhkan yang lebih kecil dari *native ligand* (N- Asetilglukosamin), senyawa turunan oxadiazol, dan Rapamycin untuk berinteraksi dengan reseptor. Afinitas yang tinggi bagi inhibitor sangat dibutuhkan karena semakin kuat afinitasnya, semakin spesifik senyawa tersebut terhadap targetnya sehingga

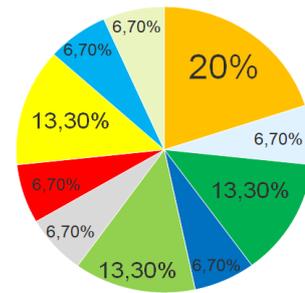
mengurangi ketidakelektifan penghambatan yang bisa saja menimbulkan efek yang tidak diinginkan [20]. Selain itu, diperlukan juga energi yang seminimal mungkin bagi inhibitor untuk menghambat CD36. Parameter ini dilihat dari *docking score* (S). *Docking score* dihitung dari kebutuhan ΔG *binding* (energi bebas) dengan rumus : ΔG *binding* = ΔG *solvent* + ΔG *complex formation* + ΔG *interaction* + ΔG *motion* [21]. Bila ΔG *binding* negatif, maka interaksi ligan-reseptor lebih spontan dan mudah terjadi. Skor *docking* yang makin kecil menandakan interaksi

protein- reseptor atau senyawa-reseptor semakin mudah terjadi [21]. Sebagai tambahan, asam amino, atom ligan, dan jenis interaksi dari *cinnamaldehyde* memiliki kesamaan dengan Rapamycin dan *Native Ligand* pada CD36 yang makin menegaskan aktivitas *cinnamaldehyde* sebagai inhibitor kompetitif. Jarak senyawa (*distance*) *cinnamaldehyde* yang lebih dekat juga memberikan keuntungan dalam menghambat CD36 lebih cepat, sehingga sapat disimpulkan bahwa *cinnamaldehyde* adalah inhibitor kompetitif CD36 yang diprediksi lebih baik dari senyawa lainnya.

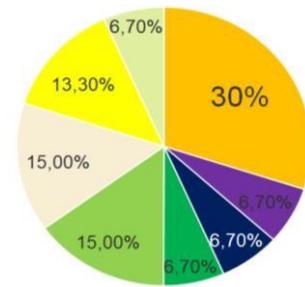
Interaksi, Aktivitas & Mekanisme Senyawa Kayu Manis terhadap Protein dalam Menghambat Penuaan Sel

Inhibisi terhadap CD36 memang penting untuk menghambat penuaan. Namun, untuk menangkal kemungkinan CD36 mengalami overekspresi lagi, protein regulator CD36 dan faktor penyebab overekspresi seperti ROS juga sebaiknya ditarget untuk dihambat aktivitasnya.

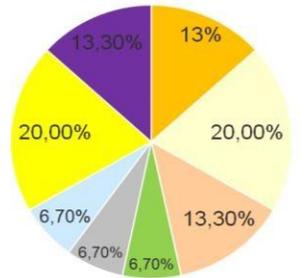
Diujikan aktivitas tiga senyawa dengan kelimpahan terbesar dalam kayu manis dengan protein yang ditarget dengan pangkalan data SwissTarget. Protein yang memiliki probabilitas prediksi terbesar sebagai target masing-masing senyawa dalam kayu manis dikelompokkan dalam beberapa kelas yang disajikan dalam gambar 6.



Cinnamaldehyde (A)



Eugenol (B)



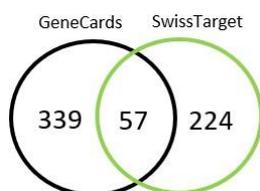
Camphor (C)



Gambar 6. Persentase aktivitas senyawa *cinnamaldehyde* (A), eugenol (B), *camphor* (C). Diagram lingkaran memuat lima belas protein target dengan probabilitas tertinggi diperoleh dari platform SwissTargetPrediction.

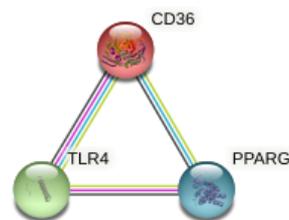
Kelas-kelas protein target tersebut mengindikasikan bahwa aktivitas yang dominan dari 3 senyawa dengan kelimpahan terbesar proses oksidasi-reduksi di dalam tubuh dan kelas protein PPAR. Selain itu, senyawa aktif kayu manis juga menarget *Toll-Like Receptor* (TLR).

Selanjutnya, dilakukan pengirisan gen target senyawa kayu manis dengan gen overekspresi pada sel yang menua melalui perangkat lunak InteractiVenn. Gen target dari kayu manis diperoleh dari pangkalan data SwissTarget sementara data gen overekspresi pada sel yang menua diperoleh dari GeneCards dengan batasan skor relevansi lebih besar dari kuartil atas sebesar 8,43. Diperoleh 57 gen yang beririsan termasuk diantaranya kelas PPAR (PPAR γ) dan TLR (TLR 4).



Gambar 7. Irisan gen target senyawa kayu manis dan gen yang overekspresi pada sel yang mengalami penuaan

Pangkalan data STRING menunjukkan interaksi protein CD36 dengan protein-protein lain. Untuk mendapatkan data yang lebih valid, digunakan parameter skor interaksi $>0,9$ (*highest confidence*). Diperoleh protein PPAR γ atau PPAR-Gamma (skor 0,951; regulator CD36), dan TLR 4 (0,944; koekspresi CD36).



Gambar 8. Interaksi CD36 dengan protein- protein lain dengan pangkalan data STRING.

PEMBAHASAN

Cellular senescence atau penuaan sel adalah *cell cycle arrest* yang irreversibel [22]. Penuaan sel ini dipicu oleh beberapa hal seperti kerusakan DNA, stress oksidatif, senyawa kimia, dan akumulasi lipid berlebih [5,23]. Salah satu tanda molekuler sel yang mengalami penuaan dini adalah dengan adanya SASP (*senescence-associated secretory phenotype*) [24]. *Cluster Difference 36* atau CD36 adalah protein membran kelas yang dapat menghasilkan ROS, menginduksi produksi SASP, dan menyebabkan akumulasi lipid pada sel [13,25,26]. Pada sel keratinosit kulit, produksi ROS dan SASP berlebihan oleh CD36 seperti menyebabkan sel kulit terindikasi mengalami penuaan lebih cepat. Bila sel keratinosit pada kulit mengalami penuaan, plastisitas sel kulit akan berkurang [27]. Adapun akumulasi sel kulit yang menua mempercepat penuaan kulit secara keseluruhan [28]. Maka dapat dikatakan bahwa CD36 adalah protein yang berperan pada penuaan sel. Diperlukan senyawa inhibitor CD36 yang memiliki sifat antioksidan untuk menekan level ROS serta sifat antipenuaan sel. Senyawa ini diharapkan juga mampu menghambat

CD36 dan menghentikan ekspresi CD36 yang berlebihan untuk mencegah penuaan sel kulit.

Untuk pencegahan penuaan sel secara umum, digunakan Rapamycin yang bekerja pada kompleks protein mTOR (*mammalian* TOR). Akan tetapi, Rapamycin juga mendisrupsi kompleks protein mTOR kedua (mTORC2) yang mengakibatkan turunnya toleransi glukosa dan berkurangnya sensitivitas insulin sehingga menimbulkan resistensi insulin [29]. Selain itu, umumnya digunakan retinol untuk mencegah penuaan kulit secara lokal, tetapi retinol rentan menyebabkan iritasi pada kulit [10]. Kelemahan- kelemahan obat yang sudah ada inilah yang membuat agen antipenuaan kulit melalui pencegahan *cellular senescence* harus dikembangkan lebih lanjut.

Senyawa dominan pada kayu manis (*Cinnamomum verum*) yaitu *cinnamaldehyde* dan eugenol pada kulit batang, serta *camphor* pada daunnya [30]. Pada studi terdahulu, selain sebagai antioksidan dan antipenuaan sel [14], kayu manis terbukti mengurangi gula puasa sebanyak 18-29%, penderita diabetes tipe 2 setelah mengonsumsi 1-6 gram kayu manis per hari selama 40 hari [31]. Jadi, senyawa aktif kayu manis tidak menimbulkan resistensi insulin seperti Rapamycin pada penjelasan sebelumnya. Mikroemulsi minyak kayu manis juga diketahui tidak menyebabkan iritasi pada kulit manusia [32].

Untuk memilih senyawa kayu manis yang paling potensial sebagai inhibitor CD36, dilakukan analisis komputasi dengan KNIME. Analisis komputasi untuk prediksi arah aktivitas senyawa terhadap suatu protein dilakukan dengan metode *random forest*.

Metode *Random Forest* merupakan salah satu metode dalam *machine learning* yang bekerja dengan cara membuat diagram alir seperti pohon yang memiliki sebuah *root node* yang digunakan untuk mengumpulkan data. Setelah itu, *random forest* mengklasifikasikan suatu sampel data yang belum diketahui kelasnya ke dalam kelas – kelas yang ada. *Random forest* adalah kombinasi dari masing - masing pohon yang baik kemudian dikombinasikan ke dalam satu model [33]. Dalam konteks penelitian ini, model yang digunakan adalah model senyawa inhibitor CD36. Setelah itu, *random forest* akan memperkirakan kekuatan dan korelasi variabel input terhadap model yang ada [33]. Penggunaan *random forest* dapat menghindari *overfitting* (tidak akurat) pada sebuah set data saat mencapai akurasi yang maksimum [34]. Selain itu, *random forest* adalah *machine learning* dengan bias yang paling kecil dan paling akurat untuk penelitian QSAR (*Quantitative Structure Activity Relationship*) [35]. Dari ketiga senyawa yang diambil (*cinnamaldehyde*, eugenol, dan *camphor*), ditunjukkan bahwa senyawa *cinnamaldehyde* memiliki kemiripan tertinggi dengan



inhibitor CD36 dan paling potensial untuk menjadi inhibitor CD36 dibanding kedua senyawa lainnya.

Pemilihan senyawa yang paling potensial saja tidak cukup. Arah aktivitas *cinnamaldehyde* harus benar benar dipastikan. Perbandingan struktur perlu dilakukan karena semakin mirip struktur *cinnamaldehyde* dengan senyawa inhibitor, semakin mirip pula aktivitas biologisnya sebagai inhibitor [36]. Persamaan dilakukan dengan membandingkan koefisien DICE dan Tanimoto dari *cinnamaldehyde* dan ChEMBL 2179501. Koefisien DICE merupakan salah satu ukuran kemiripan dalam *informational retrieval* yang berguna untuk menghitung nilai kesamaan dua buah objek. Dokumen yang di-*retrieve* atau dikembalikan merupakan hasil pengukuran antara senyawa *query* (senyawa yang dijadikan pembanding) dan senyawa yang di-*input*-kan ke dalam pemodelan [37]. Adapun skor Tanimoto mendeteksi kesamaan dua senyawa dengan melihat kesamaan *fingerprint*-nya [38]. Diperoleh hasil skor tanimoto dan DICE yang mendekati 1. Artinya, seperti yang terlihat pada tabel 4, *cinnamaldehyde* memang benar benar berperan sebagai inhibitor CD36.

Mekanisme molekuler CD36 dalam memicu penuaan sel adalah sebagai berikut.

Jika aktivator Amiloid Beta ($A\beta$) diterima CD36, hal ini akan menyebabkan produksi ROS di dalam sel yang berkontribusi dominan pada percepatan penuaan sel melalui aktivasi Src kinase, Lyn, dan Fyn [39]. Selain itu, jika aktivator ox-LDL berlebih yang masuk melalui CD36, akan terjadi kerusakan bagian krista pada mitokondria yang berakibat pada kurang efektifnya fosforilasi oksidatif [25]. Kurang efektifnya fosforilasi oksidatif menyebabkan makin banyaknya produk oksidasi yang tidak sempurna yaitu ROS [40]. ROS akan menimbulkan regulasi positif bagi CD36 [12]. Akibatnya CD36 akan terekspresi lebih banyak lagi pada membran sel dan melakukan produksi ROS yang mempercepat penuaan sel. CD36 juga diketahui memproduksi SASP (*senescence-associated secretory phenotype*) dengan jalur Src-MAPK-NF- κ B [13].

Melalui studi *docking* dan KNIME pada hasil sebelumnya, *cinnamaldehyde* menghambat CD36 sehingga tidak terjadi penerimaan aktivator yang menyebabkan penuaan sel berlangsung dengan cepat dan penstabilan keadaan penuaan sel. Inhibisi CD36 juga akan menggagalkan koekspresi reseptor TLR4 dengan CD36 akan dan mencegah aktivasi NF- κ B sehingga menurunkan produksi SASP [41]. Selain itu, *cinnamaldehyde* juga menurunkan regulasi gen pengeksresi CD36 yaitu PPAR γ dan mengurangi akumulasi lipid berlebih pada sel [42]. Turunnya regulasi

PPAR γ mengurangi regulasi CD36 dan mengurangi juga peluang terjadinya ekspresi CD36 yang berlebihan.

Senyawa dominan kayu manis lain seperti eugenol dan *camphor* juga dikenal mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat sehingga ROS berlebih pada sel penyebab penuaan sel dapat ditekan [43,44]. Dari hasil yang didapat, senyawa-senyawa pada *Cinnamomum zeylanicum* bekerja secara sinergis dalam menghambat penuaan kulit dengan menginhibisi CD36, mengatur regulasi CD36, dan menurunkan faktor-faktor yang mempercepat penuaan sel berlebih seperti ROS dan SASP.

KESIMPULAN

Senyawa pada *Cinnamomum zeylanicum* diprediksi bekerja secara sinergis untuk menghambat penuaan dini berlebih (*cellular senescence*) yang berakibat pada penuaan sel kulit dengan inhibisi CD36 dan mengeliminasi faktor faktor penuaan seperti overekspresi CD36 berlebih, akumulasi ROS (*Reactive Oxygen Species*), lemak, dan SASP (*Senescence Associated Secretory Phenotype*).

SARAN

Perlu dilakukan penelitian *in vivo* dan *in vitro* untuk membuktikan lebih lanjut efek dari *Cinnamomum zeylanicum* untuk mencegah *cellular senescence*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih diucapkan pada Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada yang

telah mendukung jalannya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Shay JW, Wright WE. Hayflick, his limit, and cellular ageing. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2000;1(1):72–6.
2. Palmer AK, Gustafson B, Kirkland JL, Smith U. Cellular senescence: At the Nexus Between Ageing and Diabetes. *Diabetologia*. 2019;62(10):1835–41.
3. Weinmüller R, Zbiral B, Becirovic A, Stelzer EM, Nagelreiter F, Schosserer M, et al. Organotypic human skin culture models constructed with senescent fibroblasts show hallmarks of Skin aging. *npj Aging and Mechanisms of Disease*. 2020;6(1).
4. Bellei B, Picardo M. Premature cell senescence in human skin: Dual face in chronic acquired Pigmentary Disorders. *Ageing Research Reviews*. 2020;57:100981.
5. Martens DS, Nawrot TS. Air Pollution Stress and the aging phenotype: The Telomere Connection. *Current Environmental Health Reports*. 2016;3(3):258–69.
6. Lizardo DY, Lin Y-L, Gokcumen O, Atilla-Gokcumen GE. Regulation of lipids is central to replicative senescence. *Molecular BioSystems*. 2017;13(3):498–509.
7. Pulakat L, Chen HH. Pro-Senescence and anti-senescence mechanisms of cardiovascular aging: Cardiac microRNA regulation of longevity drug-induced autophagy. *Frontiers in Pharmacology*. 2020;11.
8. Xu S., Cai Y., dan Wei Y. MTOR signaling from cellular senescence to organismal aging. *Aging and Disease*. 2014.
9. Fischer KE, Gelfond JA, Soto VY, Han C, Someya S, Richardson A, et al. Health effects of long-term rapamycin treatment: The impact on Mouse Health of enteric rapamycin treatment from four months of age throughout life. *PLOS ONE*



- 2015;10(5).
10. Kim B, Lee YS, dan Kang KS. The mechanism of retinol-induced irritation and its application to anti-irritant development. *Toxicology Letters*. 2003;146(1):65–73.
 11. Drews A, Flint J, Shivji N, Jönsson P, Wirthensohn D, De Genst E, et al. Individual aggregates of amyloid beta induce temporary calcium influx through the cell membrane of neuronal cells. *Scientific Reports*. 2016;6(1).
 12. Santos R, Ruiz de Almodóvar C, Bulteau A- L, Gomes CM. Neurodegeneration, neurogenesis, and oxidative stress. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2013;2013:1–2.
 13. Chong M, Yin T, Chen R, Xiang H, Yuan L, Ding Y, et al. CD 36 initiates the secretory phenotype during the establishment of cellular senescence. *EMBO reports*. 2018;19(6).
 14. Rao PV, Gan SH. Cinnamon: A multifaceted medicinal plant. *Evidence- Based Complementary and Alternative Medicine*. 2014;2014:1–12.
 15. Rajamani K, Lin Y-C, Wen T-C, Hsieh J, Subeq Y-M, Liu J-W, et al. The antisenescence effect of trans-cinnamaldehyde on adipose-derived Stem Cells. *Cell Transplantation*. 2015;24(3):493–507.
 16. Sydow D, Morger A, Driller M, Volkamer A. TeachOpenCADD: A teaching platform for computer-aided drug design using open source packages and Data. *Journal of Cheminformatics*. 2019;11(1).
 17. Hermawan A, Putri H, Hanif N, Ikawati M. Integrative Bioinformatics Study of Tangeretin potential targets for preventing metastatic breast cancer. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2021;2021:1–15.
 18. Vazquez MM, Gutierrez MV, Salvatore SR, Puiatti M, Dato VA, Chiabrando GA, et al. Nitro-oleic acid, a ligand of CD36, reduces cholesterol accumulation by modulating oxidized-LDL uptake and cholesterol efflux in raw264.7 macrophages. *Redox Biology*. 2020;36:101591.
 19. Mittapalli GK, Zhao F, Jackson A, Gao H, Lee H, Chow S, et al. Discovery of ITX 4520: A highly potent orally bioavailable hepatitis C virus entry inhibitor. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2012;22(15):4955–61.
 20. Eaton BE, Gold L, Zichi DA. Let's get specific: The relationship between specificity and affinity. *Chemistry & Biology*. 1995;2(10):633–8.
 21. Meng X-Y, Zhang H-X, Mezei M, Cui M. Molecular docking: A powerful approach for structure-based drug discovery. *Current Computer Aided-Drug Design*. 2011;7(2):146–57.
 22. Kuilman T, Michaloglou C, Mooi WJ, Peeper DS. The essence of senescence: Figure 1. *Genes & Development*. 2010;24(22):2463–79.
 23. Flor AC, Wolfgeher D, Wu D, Kron SJ. A signature of enhanced lipid metabolism, lipid peroxidation and aldehyde stress in therapy-induced senescence. *Cell Death Discovery*. 2017;3(1).
 24. Campisi J, d'Adda di Fagagna F. Cellular senescence: When bad things happen to good cells. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2007;8(9):729–40.
 25. Chen Y, Yang M, Huang W, Chen W, Zhao Y, Schulte ML, et al. Mitochondrial metabolic reprogramming by CD36 signaling drives macrophage inflammatory responses. *Circulation Research*. 2019;125(12):1087–102.
 26. Angin Y, Steinbusch LKM, Simons PJ, Greulich S, Hoebbers NTH, Douma K, et al. CD36 inhibition prevents lipid accumulation and contractile dysfunction in rat cardiomyocytes. *Biochemical Journal*. 2012;448(1):43–53.
 27. Gruber F, Kremsehner C, Eckhart L, Tschachler E. Cell aging and cellular senescence in skin aging — recent advances in fibroblast and keratinocyte biology. *Experimental Gerontology*. 2020;130:110780.
 28. Wlaschek M, Maity P,



- Makrantonaki E, Scharffetter-Kochanek K. Connective tissue and fibroblast senescence in skin aging. *Journal of Investigative Dermatology*. 2021;141(4):985–92.
29. Lamming DW, Ye L, Katajisto P, Goncalves MD, Saitoh M, Stevens DM, et al. Rapamycin-induced insulin resistance is mediated by mtorc2 loss and uncoupled from longevity. *Science*. 2012;335(6076):1638–43.
 30. Vangalapati, M, Sree,S.N., Surya, P.D.V., dan Sumanjali, A. A Review on Pharmacological Activities and Clinical effects of Cinnamon Species. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2012; 3 (1): 653.
 31. Anderson RA. Chromium and polyphenols from cinnamon improve insulin sensitivity. *Proceedings of the Nutrition Society*. 2008;67(1):48–53.
 32. Ghosh V, Saranya S, Mukherjee A, Chandrasekaran N. Antibacterial microemulsion prevents sepsis and triggers healing of wound in wistar rats. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2013;105:152–7.
 33. Talevi A, Morales JF, Hather G, Podichetty JT, Kim S, Bloomingdale PC, et al. Machine learning in drug discovery and development part 1: A Primer. *CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology*. 2020;9(3):129–42.
 34. Breiman L. *Machine Learning*. 2001;45(1):5–32.
 35. Svetnik V, Liaw A, Tong C, Culberson JC, Sheridan RP, Feuston BP. Random ForestA classification and regression tool for compound classification and QSAR modeling. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences*. 2003;43(6):1947– 58.
 36. Bajorath J. Molecular similarity concepts for informatics applications. *Methods in Molecular Biology*. 2016;:231–45.
 37. Prasetyo VR, Hartanto B, Mulyono AA. Penentuan Pembimbing Tugas Akhir Mahasiswa Jurusan teknik informatika Universitas Surabaya dengan metode dice coefficient. *Teknika*. 2019;8(1):44–51.
 38. Bajusz D, Rácz A, Héberger K. Why is Tanimoto index an appropriate choice for fingerprint-based similarity calculations? *Journal of Cheminformatics*. 2015;7(1).
 39. Moore KJ, El Khoury J, Medeiros LA, Terada K, Geula C, Luster AD, et al. A CD36-initiated signaling cascade mediates inflammatory effects of β -amyloid. *Journal of Biological Chemistry*. 2002;277(49):47373–9.
 40. Scialò F, Fernández-Ayala DJ, Sanz A. Role of mitochondrial reverse electron transport in ROS signaling: Potential roles in health and disease. *Frontiers in Physiology*. 2017;8.
 41. Stewart CR, Stuart LM, Wilkinson K, van Gils JM, Deng J, Halle A, et al. CD36 ligands promote sterile inflammation through assembly of a toll-like receptor 4 and 6 heterodimer. *Nature Immunology*. 2009;11(2):155–61.
 42. Huang B, Yuan HD, Kim DY, Quan HY, Chung SH. Cinnamaldehyde prevents adipocyte differentiation and adipogenesis via regulation of peroxisome proliferator- activated receptor- γ (PPAR γ) and AMP-activated protein kinase (AMPK) pathways. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2011;59(8):3666–73.
 43. Gülçin İ. Antioxidant activity of eugenol: A structure–activity relationship study. *Journal of Medicinal Food*. 2011;14(9):975– 85.
 44. Tran TA, Ho MT, Song YW, Cho M, Cho SK. Camphor induces proliferative and anti- senescence activities in human primary dermal fibroblasts and inhibits UV-induced wrinkle formation in Mouse skin. *Phytotherapy Research*. 2015;29(12):1917– 25.

SKRINING VIRTUAL BERBASIS LIGAN SENYAWA PRODUK NATURAL TERHADAP SARS-COV-2 MAIN PROTEASE (M^{pro}) MENGGUNAKAN PENDEKATAN SIMILARITAS SUBSTRUKTUR DAN PEMBELAJARAN MESIN

GP. Wahyunanda Crista Yuda^{1a}

¹Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada

^aCorresponding author's email: gpwahunanda@mail.ugm.ac.id

ABSTRAK

Pendahuluan : COVID-19 merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh SARS-CoV-2 dan merupakan kerabat dekat SARS-CoV. Dengan afinitasnya 10-20 kali terhadap reseptor ACE2 melebihi SARS-CoV, COVID-19 mencapai prevalensi hingga 515,764,048 kasus. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk mencari terapi COVID-19, mulai penemuan vaksin hingga repurposing obat sehingga menemukan SARS-CoV-2 Main Protease (M^{pro}) adalah target terapi yang potensial dikarenakan perannya yang esensial dalam replikasi dan sekuensnya yang konservatif. Beberapa studi terapi antiviral tertarget M^{pro} telah dilakukan, namun beberapa tidak efektif dan berpotensi membahayakan. Alternatif yang dapat diajukan adalah dengan memanfaatkan senyawa produk natural (PN).

Metode : melakukan skrining sebanyak 407.270 senyawa PN dengan menggunakan pendekatan berbasis ligan: similaritas substruktur dan pembelajaran mesin. Sebanyak 16.473 ligand yang berinteraksi dengan M^{pro} diperoleh dan diklasifikasi menjadi aktif dan inaktif berdasarkan *cut-off* dan senyawa PN disaring dengan menggunakan parameter *Lipinski's Rule of Five*. Kedua data ini distandardisasi menggunakan protocol Galadeta dkk. Skrining dilakukan pada KNIME dengan menggunakan *syntax* RDkit.

Hasil : penelitian menunjukkan sebanyak 25 *scaffold* berhasil menghasilkan 59.406 senyawa PN poten dengan 7-bromo-4-(chloromethyl)-2H-chromen-2-one dan isomernya memiliki skor similaritas 0,93, mengalahkan kontrol positif GC-376 (0,85), nirmatrelvir (0,64), ritonavir (0,57), dan lopinavir (0,53).

Kesimpulan : Potensi inhibisi M^{pro} oleh 7-bromo-4-(chloromethyl)-2H-chromen-2-one perlu dikaji lebih lanjut untuk pengembangan senyawa terapi COVID-19 berbasis bahan alam.

Kata Kunci: COVID-19, produk natural, perancah, similaritas sidik jari, KNIME

ABSTRACT

Introduction : COVID-19 is an infectious disease caused by SARS-CoV-2, close relative of SARS-CoV. With 10-20 times affinity for the ACE2 receptor over SARS-CoV, COVID-19 has reached 515,764,048 cases. Several studies have searched for COVID-19 therapy, from vaccine discovery to drug repurposing, finding SARS-CoV-2 Main Protease (M^{pro}) a potential therapeutic target due to its essential role in replication with conservative sequence. Several studies of M^{pro} targeted therapy have been conducted, but some are ineffective and potentially harmful. An alternative proposed is to use natural product (NP) compounds.

Method : This study aims to screen 407,270 NP compounds using a ligand-based approach: substructure similarity and machine learning. 16,473 ligands that interact with M^{pro} were obtained and classified into active and inactive based on the *cut-off* and NP compounds were filtered using *Lipinski's Rule of Five* parameters. Both of these data were



standardized using the Gadaleta protocol. Screening is conducted on KNIME using the RDKit syntax.

Results : showed that 25 scaffolds produced 59,406 potent NP compounds with 7-bromo-4-(chloromethyl)-2H-chromen-2-one had a similarity score of 0.93, beating the positive control GC-376 (0.85), nirmatrelvir (0.64), ritonavir (0.57), and lopinavir (0.53).

Conclusion : The potential for inhibition of M^{pro} by 7-bromo-4-(chloromethyl)-2H-chromen-2-one needs to be studied further to develop NP-based COVID-19 therapeutic.

Keywords: COVID-19, natural products, scaffold, fingerprint similarity, KNIME

PENDAHULUAN

COVID-19 merupakan penyakit yang disebabkan oleh infeksi virus SARS-CoV-2 dan mencapai prevalensi 515,764,048 kasus dengan mortalitas 6,246,241 jiwa per 5 Mei 2022 (1). SARS-CoV-2 merupakan kerabat dekat dari SARS-CoV dan MERS-CoV yang sempat menyebabkan epidemi pada tahun 2002 dan 2013 lalu (2). Namun, salah satu keunikan yang menyebabkan SARS-CoV-2 menjadi pandemi global adalah afinitas proteinnya terhadap reseptor ACE2, yang mana 10-20 kali lebih tinggi dibandingkan SARS-CoV (3), sehingga tingkat replikasi dan penyebarannya dapat tinggi melebihi kedua pendahulunya. Berbagai pihak telah mengembangkan vaksin untuk mengatasi SARS-CoV-2 (4–7). Selain itu juga, beberapa studi juga menyarankan untuk menggunakan obat yang ada sebagai terapi alternatif untuk COVID-19 menggunakan pendekatan drug repurposing (8–11).

Dari semua studi yang menarget beberapa protein autentik SARS-CoV-2, M^{pro} atau 3CL^{pro} merupakan yang paling potensial dikarenakan fungsi fisiologisnya yang esensial dalam proses replikasi virus dan sekuensnya yang terbilang masih konservatif

(99,02% identik dengan SARS-CoV) (12). Beberapa inhibitor protein ini telah dikembangkan, seperti GC-373 dan 376 (13–17). Bahkan, banyak studi yang melakukan skrining virtual drug repurposing dengan menggunakan metode penambatan molekular sehingga menghasilkan hidroksiklorokuin, remdesivir, lopinavir, dan beberapa obat lainnya sebagai alternatif terapi (18–21). Namun, beberapa obat ini ternyata tidak menunjukkan efikasi yang memadai, bahkan dapat memberikan efek samping yang tidak diketahui dikarenakan regimen dosis yang digunakan juga berbeda (22). Oleh karena itu, alternatif pengobatan tertarget M^{pro} yang potensial dan aman perlu dilakukan. Salah satunya adalah menggunakan produk natural (PN) dari tumbuhan obat.

Indonesia memiliki lebih dari 30.000 spesies tumbuhan obat (80%) dari total tumbuhan obat di dunia dan sekitar sekitar 9.600 tumbuhan tersebut memiliki berbagai aktivitas biologis (23). Beberapa senyawa fitokimia yang dihasilkan oleh tumbuhan ini tentunya memiliki aktivitas antivirus. Sebuah *literature review* merangkum kumpulan tanaman obat dan senyawa aktifnya beserta kemungkinan potensi targetnya dalam menyerang SARS-CoV-2 (24).



Namun perlu diingat, satu tumbuhan obat dapat menghasilkan berbagai senyawa bioaktif sebagai metabolit sekundernya sehingga pendekatan penambatan molekular sangat tidak praktis dilakukan untuk skrining ratusan ribu fitokimia. Maka dari itu, pendekatan berbasis ligan menggunakan gabungan metode similaritas substruktur dan pembelajaran mesin dapat menjadi alternatif (25) untuk skrining cepat dengan hasil yang lebih akurat dibandingkan penambatan molekular (26,27). Hal ini memungkinkan karena didukung oleh banyaknya ligan yang sudah tercatat berinteraksi dengan M^{pro} pada database keminformatik sehingga pendekatan berbasis ligan dapat dilakukan.

Tahap awal dari skrining virtual berbasis ligan dilakukan mulai dari persiapan ligan dengan melakukan standarisasi menggunakan protokol Gadaleta dkk. (28) dan membagi ligan menjadi aktif dan inaktif berdasarkan *cut-off*. Ligan yang aktif nantinya akan dijadikan input untuk *scaffold mining* dan *hierarchical clustering* sebagai preparasi pembuatan *Maximum Common Substructure* (MCS) dalam bentuk *SMiles ARbitrary Target Specification* (SMARTS) (29) yang berfungsi sebagai referensi skrining dengan menyamakan similaritas MCS dengan substruktur fitokimia. Sedangkan, ligan yang aktif dan inaktif dijadikan input untuk membentuk model pembelajaran mesin berbasis similaritas sidik jari. Algoritma sidik jari yang digunakan adalah *Molecular Access*

System (MACCS) dan ECFP4 atau sering dikenal dengan *Morgan* (30–32), lalu algoritma pembelajaran mesin yang digunakan adalah *classification supervised: Random Forest* (RF) (33), *Artificial Neural Network* (ANN) (34), dan *Support Vector Machine* (SVM) (33). Model yang terbaik nantinya digunakan untuk menentukan aktivitas fitokimia yang terkskrining dengan mengurutkan skor similaritasnya dengan ligan-ligan yang berinteraksi dengan M^{pro}, yang mana semakin tinggi skornya maka semakin poten senyawa fitokimia tersebut karena semakin mirip dengan kumpulan ligan yang aktif.

METODE

Semua Langkah dimulai dari tahap satu hingga terakhir mengadaptasi alur kerja pada penelitian Tuerkova dan Sydow (35,36). Alur kerja ini dilakukan pada aplikasi sumber terbuka KNIME menggunakan nodus dengan sedikit koding (37) dan nodus tersebut diadaptasi dari perintah (*syntax*) yang berasal dari komunitas RDKit (38)

Preparasi Ligan dan Senyawa Fitokimia

Sebanyak 16.473 ligan yang berinteraksi dengan M^{pro} didapatkan dari database PDB, ChEMBL, dan PubChem beserta format *Simplified Molecular-Input Line-Entry System* (SMILES)nya. Sebanyak 407.270 senyawa fitokimia juga didapatkan dari database Collection of Open Natural Products (COCONUT) beserta SMILESnya. Kedua data tersebut distandardisasi menggunakan



protocol Gadaleta dkk. dengan menghilangkan stereoisomer pada SMILES, menghilangkan ion dan garam, dan menyaring senyawa yang hanya memiliki atom H,C,N,O,F,Br,I,Cl,P,S. Untuk seleksi ligan, sebelum distandardisasi perlu dilakukan klasifikasi potensi senyawa aktif/inaktif dengan melabeli biner 0 untuk inaktif dan 1 untuk aktif, di mana senyawa aktif memiliki aktivitas $IC_{50}/K_i < 1 \mu M$ (39) dan %Inhibition $> 80\%$ (40). Khusus untuk preparasi ligan *scaffold mining*, interaksi protein-ligan yang valid dari PDB disaring menggunakan resolusi $< 2.05 \text{ \AA}$ (41). Untuk database fitokimia, sebelum distandardisasi perlu dilakukan penyaringan dengan menggunakan *Lipinski's Rule of Five* (42) dengan kriteria senyawa yang lolos adalah memenuhi ≥ 4 syarat dan dianggap aktif di dalam penelitian ini.

1. *Scaffold Mining, Hierarchical Clustering*, dan Pembuatan *Maximum Common Substructure*

Ligan aktif yang telah dipreparasi dan distandardisasi diteruskan ke proses pembuatan *scaffold* dengan algoritma *unsupervised* menggunakan nodus RDKit *Find Murcko Scaffold* untuk menghasilkan *Murcko framework* (43). Setelah kumpulan *scaffold* terbentuk, dilanjutkan dengan melakukan klustering metode *Average Linkage* (44) dengan *distance threshold* 0.5 yang diatur pada nodus *cluster assigner*. Terakhir, *scaffold* dengan nomor klusternya diteruskan ke proses pembuatan dan kalkulasi MCS

menggunakan nodus RDKit MCS sehingga menghasilkan *scaffold* yang teroptimasi ke dalam format SMARTS.

2. Skrining Substruktur Produk Natural Berdasarkan MCS

Scaffold teroptimasi ini kemudian dijadikan sebagai standar referensi untuk skrining substruktur seluruh PN yang telah disaring dan terstandardisasi dengan menggunakan nodus RDKit *Substructure Filter* dan RDKit *Molecular Highlighter*. Proses ini terus diulang setiap putaran dengan satu putaran mewakili *scaffold* yang menyocokkan diri dengan struktur PN yang ada sehingga dihasilkan kumpulan senyawa yang telah diskriminasi yang mungkin satu senyawa memiliki lebih dari satu *scaffold* berbeda.

3. Penentuan Skor Similaritas dengan Metode Sidik Jari dan Pembelajaran Mesin

Ligan yang telah dipreparasi sebelumnya terbagi menjadi aktif dan inaktif berdasarkan parameter *cut-off* yang telah ditentukan. Semua ligan aktif dan inaktif ini kemudian diteruskan ke proses pembuatan model similaritas sidik jari dan pembelajaran mesin. Data ligan berupa SMILES dan label biner 0 dan 1 masuk ke dalam pemrosesan pemecahan sidik jari menggunakan nodus RDKit *Fingerprint* dengan format sidik jari yaitu *bitstring*. Dua metode sidik jari yang digunakan adalah MACCS dan *Morgan* (31). Setelah SMILES terbagi menjadi beberapa *bitstring* dan membentuk sebuah *array*, *array* ini kemudian diteruskan ke dalam tiga



algoritma pembelajaran mesin terawasi yang sering digunakan untuk klasifikasi, *Random Forest*, *Artificial Neural Network*, dan *Support Vector Machine*.

Ketiga algoritma ini dikonfigurasi dengan *k-cross value* sebesar 10, yang berarti 10% data untuk uji percobaan dan 90% data untuk pelatihan mesin. Metode sampling yang digunakan masing-masing algoritma adalah *random stratified sampling*, mengingat rasio jumlah ligan aktif dengan inaktif adalah 1:40 agar proporsi ligan untuk pelatihan dan tes seimbang. Selain itu, nodus *Synthetic Minority Over-sampling*

Technique (SMOTE) juga membantu untuk membuat dataset ligan buatan untuk menyeimbangkan jumlah ligan yang dijadikan pelatihan. Selanjutnya, semua konfigurasi pembelajaran mesin dari ketiga algoritma dibuat *default* dari aplikasi. Setelah pembuatan model pembelajaran mesin selesai, model dari ketiga algoritma untuk masing-masing dari metode MACCS dan *Morgan* dievaluasi menggunakan analisis statistik *confusion matrix* dan *ROC Curve* (45). Model dengan hasil statistik terbaik akan dijadikan prediktor untuk menentukan skor similaritas PN yang telah terskrining sebelumnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

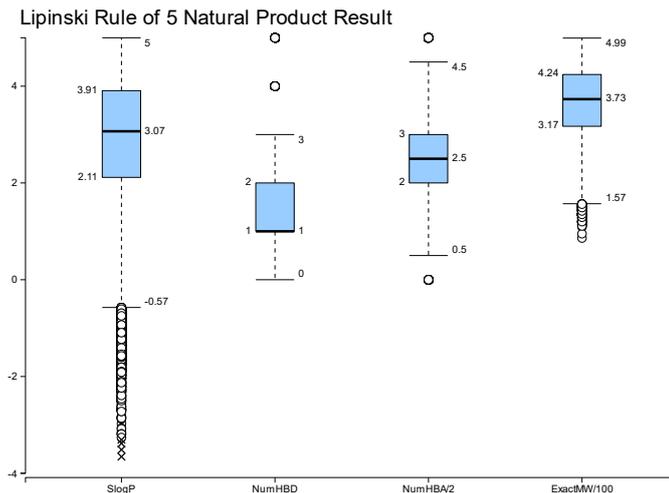
1. Preparasi Ligan dan Senyawa Produk Natural

Tabel 1. Hasil Pengambilan Data Ligan dan Senyawa Produk Natural.

Proses dilakukan dengan mengajukan permintaan daring ke masing-masing database dan dilanjut dengan pelabelan dan Standardisasi

Data		Jumlah Ligan M ^{pro}	Jumlah Senyawa Produk Natural
Hasil Pengambilan Database	PDB	317	
	ChEMBL	8.819	
	PubChem	7.337	
	COCONUT		407.270
Belum Terstandardisasi	Ligan/PN aktif	5.259	301.277
	Ligan/PN inaktif	11.214	
Telah Terstandardisasi	Ligan/PN aktif	269	292.384
	Ligan/PN inaktif	3.873	





Gambar 1. Distribusi Parameter *Lipinski's Rule of Five* dari Senyawa Produk Natural yang Terskrining.

Terlihat rerata logP yang diperoleh yaitu 3,07. rerata jumlah ikatan hidrogen donor dan akseptor yaitu 1 dan 5. Terakhir rerata berat molekul senyawa adalah 373 Da

Hasil preparasi ligan yang berinteraksi atau memiliki bioaktivitas dengan M^{pro} di Tabel 1 menghasilkan 269 ligan aktif dari 16.473 yang dapat dijadikan sebagai bahan untuk membuat *scaffold*. Selain itu, total 3.969 ligan aktif dan inaktif yang hanya berasal dari data bioaktivitas digunakan sebagai bahan untuk membuat model pembelajaran mesin dan similaritas sidik jari. Hasil preparasi senyawa PN menghasilkan 292.384 senyawa yang telah lolos penyaringan *Lipinski's Rules of Five* dan standarisasi dari 407.270 senyawa yang ada di database COCONUT. Berdasarkan Gambar 1, rerata senyawa ini memiliki 0-5 ikatan hidrogen donor (<5), 0-10 ikatan hidrogen akseptor (<10), berat molekul 86,08- 499,31 Da (<500), dan LogP - 3.657-5 (<5) sehingga memenuhi kriteria.

Pembagian label berdasarkan *cut-off* ini penting mengingat acuan skrining virtual berbasis ligan terletak pada pengolahan ligannya. Alasan penulis menentukan *cut-off* resolusi <2.05Å dan bioaktivitas IC₅₀/K_i <1µM dan >80% Inhibisi adalah untuk memastikan bahwa senyawa PN yang terskrining memiliki beberapa karakteristik yang mirip dengan ligan-ligan ini, baik dari potensi bioaktivitas dan posisi substruktur yang memiliki sifat farmakofor, walau pendekatan yang digunakan adalah similaritas sidik jari.

Preparasi lainnya adalah dengan melakukan standarisasi menggunakan protocol Gadaleta dkk. yang bertujuan untuk menyamaratakan ligan dan senyawa PN ke dalam bentuk 2D dan normal (tanpa ion, garam, dan atom selain H,C,N,O,F,Br,I,Cl,P,S). Penyamataan ini dilakukan agar memudahkan pembuatan *scaffold* dalam pemecahan substruktur sehingga benar-

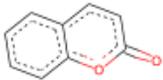
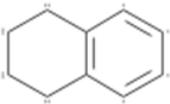
benar dihasilkan *Murcko framework* yang sedikit gangguan dan mengurangi bias untuk pembelajaran mesin ketika membentuk sebuah model. Preparasi lainnya, khusus untuk senyawa PN, penulis menggunakan *Lipinski's Rule of Five* sebagai kriteria seleksi senyawa yang memiliki sifat *drug-likeness* dan

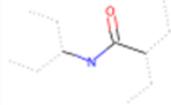
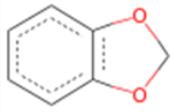
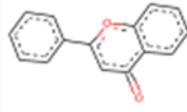
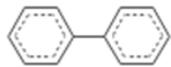
menentukan senyawa PN layak dikonsumsi secara oral (42). Parameter ini sangat kritis dalam pengembangan obat, terutama dalam menghilangkan masalah farmakokinetik dan bioavailabilitas obat ketika masuk ke fase absorpsi.

2. Pembentukan dan Klustering Hasil *Scaffold* yang Terbentuk dan Jumlah Senyawa yang Terskrining

Tabel 2. Daftar 10 *Scaffold* Teroptimasi yang Menghasilkan Senyawa PN Terbanyak beserta Klusternya.

Dapat dilihat bahwa urutan *scaffold* dimulai dari kumarin, lalu dilanjut dengan alil karbon 9, sikloheksan mengandung N, benzodioksol, flavonoid, naftalena, alil karbon 7, dan bifenil

Kelompok Kluster	<i>Scaffold</i> (MCS)	Format SMARTS (String)	Jumlah Senyawa PN yang Terskrining
1		<chem>[*]1:[*]:[*]:[*]2:[*]([*]:1):[*8] :[*]([*]:[*]:2)=[*8]</chem>	14.231
		<chem>[*]1-[*]-[*]-[*]2:[*](-[*]-1):[*]:[*]:[*]:[*]:2</chem>	3.222
		<chem>[*]1:[*]:[*]:[*]:[*]2:[*]:[*]:[*]6:[*]:[*]:1:2</chem>	3.098
2		<chem>[*7](-:[*]:[*]:[*]:[*]:[*]:[*]:[*]- :[*]-:[*]:[*]</chem>	10.340

Kelompok Kluster	Scaffold (MCS)	Format SMARTS (String)	Jumlah Senyawa PN yang Terskrining
		<chem>[#7]-.[#6]:[#7]:[#6]:[#6]:[#6]:[#7]</chem>	3.089
		<chem>[#6]-.[#6]-.[#6](-[#6](=[#8])-[#7]-[#6](.[#6]:.[#6]:.[#6]:.[#6]:.[#6]-.[#6])-[#6])-[#6]</chem>	1.749
3		<chem>[#7]1-[#6]-[#6]-[#7]-[#6]-[#6]-1</chem>	8.368
4		<chem>[#6]1:[#6]:[#6]:[#6]2:[#6](:[#6]:1)-[#8]-[#6]-[#8]-2</chem>	6.751
5		<chem>[#6]1:[#6]:[#6]:[#6]2:[#6](=[#8]):[#6]:[#6](-[#6]3:[#6]:[#6]:[#6]:[#6]:[#6]:3):[#8]:[#6]:2:[#6]:1</chem>	3.248
6		<chem>[#6]1:[#6]:[#6]:[#6](:[#6]:[#6]:1)-[#6]1:[#6]:[#6]:[#6]:[#6]:1</chem>	2.103

Hasil pembuatan *scaffold*, klustering, dan optimasi MCS menghasilkan 25 *scaffold* yang berhasil menskrining senyawa PN yang dapat dilihat pada Tabel 2. *Scaffold* ini terbagi menjadi empat kelompok: (1) naftalena dan kumarin, (2) grup alil, (3)

sikloheksana mengandung N, (4) benzodioksol dan turunannya, (5) flavonoid, dan (6) bifenil. Total senyawa yang terskrining pun juga semakin berkurang, 59.406 dari 292.384 (20,3%) yang merupakan hasil dari pencocokan 25 *scaffold* di atas. *Scaffold* dengan

jumlah senyawa PN terbanyak diperoleh oleh *scaffold* kumarin dengan total senyawa 14.231, lalu disusul oleh alil karbon 9 (10.340), sikloheksana mengandung N (8.368), dan seterusnya. Dapat disimpulkan bahwa senyawa PN yang memiliki substruktur yang kita kenal seperti kumarin, flavonoid, dan benzodioksol berpotensi besar untuk menjadi terapi inhibitor M^{pro}.

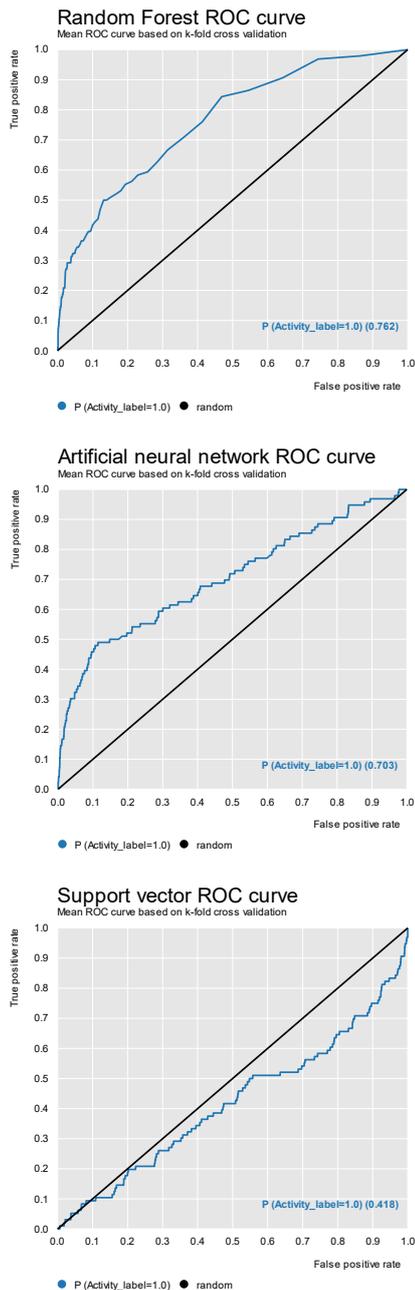
Pembuatan Murcko framework, pengelompokan kluster, dan optimasi *scaffold* menggunakan pendekatan MCS secara berurutan masuk ke dalam salah satu metode skrining berbasis ligan menggunakan deskriptor 2D. Maksud dari descriptor di sini adalah, skrining dilakukan berlandaskan properti dari ligan yang sudah ada yang kemudian digunakan untuk mencari senyawa yang memiliki kesamaan dengan properti ligan yang dijadikan variabel, berbeda dengan skrining berbasis struktur yang

prosesnya mengacu pada struktur 3D dan posisi atau koordinat ligan. Pendekatan menggunakan deskriptor pada penelitian ini ada dua: pembentukan substruktur umum dengan membentuk *scaffold* seperti pada hasil di atas dan pemecahan struktur ligan menjadi sidik jari yang mewakili substruktur-substruktur ligan aktif dan inaktif. Tentu hasil yang diberikan pendekatan pertama memiliki banyak kekurangan. Tiga kekurangan utamanya adalah hasil skrining yang tidak terorganisir, biasanya hasil skrining dengan mengandalkan similaritas *scaffold*, dan tidak adanya kuantifikasi senyawa mana yang poten dalam menghambat protein target. Oleh karena itu, disinilah peran metode similaritas sidik jari dan pembelajaran mesin membantu memprediksi semua senyawa PN.

3. Hasil Evaluasi Model Pendekatan Similaritas Sidik Jari dan Pembelajaran Mesin

Tabel 3. Rangkuman Parameter Pembelajaran Mesin dan Metode Similaritas Sidik Jari yang Akan Digunakan untuk Memprediksi Senyawa Produk Natural. Dari semua model algoritma dan sidik jari, dapat disimpulkan bahwa model *Random Forest* Sidik Jari MACCS digunakan sebagai model predictor dikarenakan hasilnya mengungguli model lainnya

Parameter Evaluasi Pembelajaran Mesin	MACCS			Morgan		
	RF	ANN	SVM	RF	ANN	SVM
Akurasi Keseluruhan (%)	95.94	93.32	N/A	89.29	95.99	N/A
Akurasi Seimbang (%)	0.880	0.924	N/A	0.940	0.98	N/A
<i>Cohen's Kappa</i> (κ)	0.223	0.161	0.000	0.107	0.129	0.000
<i>ROC AUC</i>	0.762	0.703	0.418	0.748	0.584	0.433

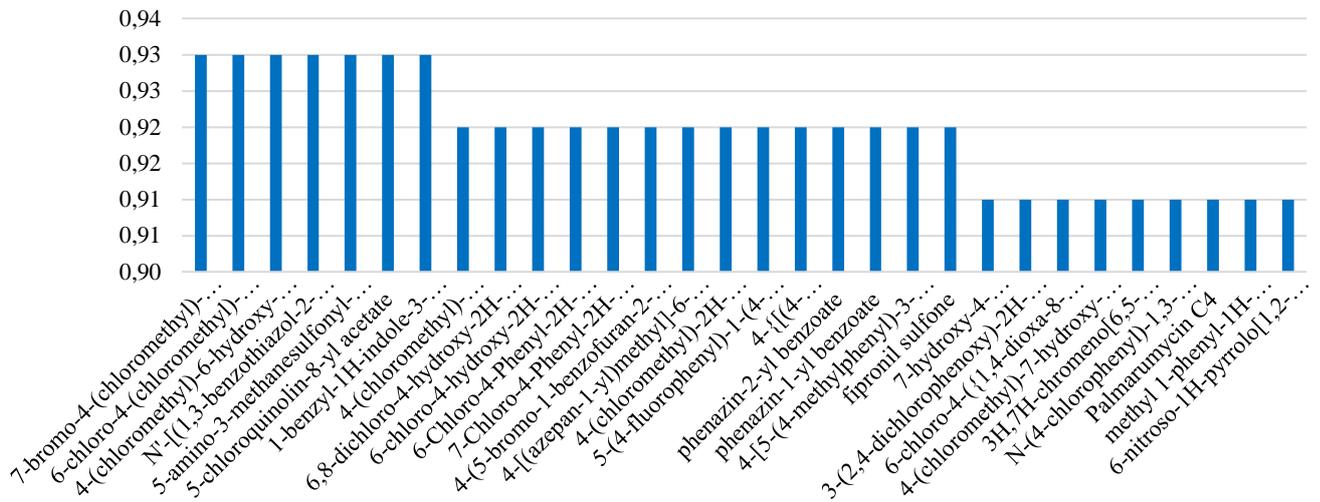


Gambar 2. Hasil Kurva ROC dari Masing-masing Algoritma Pembelajaran Mesin Metode Sidik Jari MACCS. Dapat dilihat bahwa model *Random Forest* mengungguli kedua model lainnya, sedangkan model Support Vector Machine tidak layak digunakan untuk memprediksi skor senyawa PN

Pendekatan skrining berbasis ligan kedua yang digunakan dalam penelitian ini adalah gabungan similaritas sidik jari

dengan pembelajaran mesin. Dengan memasukkan 3.969 ligan aktif dan inaktif, melakukan pre-proses, dan melakukan pelatihan dan tes model, didapatkan hasil statistik yang tertera pada Tabel 3. Evaluasi pembelajaran mesin dari masing-masing tiga algoritma dan dua metode sidik jari menyimpulkan model *Random Forest* MACCS adalah yang terbaik dikarenakan keseluruhan aspek memiliki nilai tertinggi dibandingkan dengan model-model lainnya. Selain itu, nilai masing-masing evaluasi juga memenuhi kriteria minimal, di mana akurasi keseluruhan $\geq 90\%$ (46) dan ROC AUC berada pada rentang cukup diterima (0,7-0,8) (47). Namun, berbeda dengan *Cohen's Kappa* dan Akurasi Seimbang di mana nilai Kappa berada pada rentang persetujuan rendah (0.00-0.40) (48) dan Akurasi Seimbang $< 1\%$ dikarenakan ketidakseimbangan ligan aktif dan inaktif sedari awal. Disamping evaluasi model RF, model SVM, baik MACCS dan Morgan menunjukkan ketidakmampuan untuk mengklasifikasi ligan inaktif dan aktif. Hal ini terlihat pada hasil Akurasi Keseluruhan dan *Cohen's Kappa* yang tidak memunculkan hasil dan kurva ROC AUC mereka berada di bawah 0,5 yang dapat dilihat pada gambar 2. Kedua nilai ini menandakan bahwa model SVM gagal (46–48). Setelah menentukan bahwa model yang digunakan adalah RF MACCS, selanjutnya model diekspor ke tahap terakhir untuk memprediksi similaritas senyawa PN.

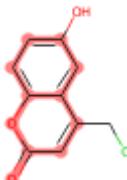
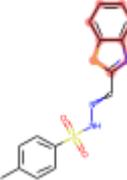
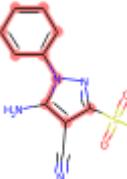
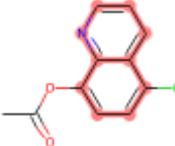
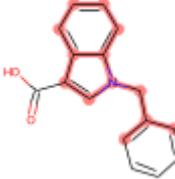
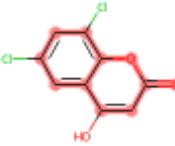
Daftar Senyawa PN Hasil Skrining Model RF MACCS (Kepercayaan >90)

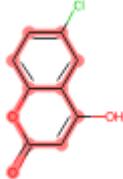


Gambar 3. Daftar Senyawa PN Kandidat dengan Skor Similaritas >90%. Daftar ini diurutkan dari yang tertinggi hingga terendah. Terdapat 30 senyawa PN yang melebihi kepercayaan >90% dari 59.406 senyawa PN yang lolos sebelumnya

Tabel 4. Top 10 Senyawa Hasil Prediksi Model Random Forest MACCS. Terlihat bahwa scaffold kumarin dan alil mendominasi posisi tertinggi prediksi similaritas dengan ligan yang aktif berinteraksi dengan M^{pro}

COCONUT ID	Nama Senyawa	SMILES	Struktur Senyawa (+MCS berwarna)	Skor Similaritas
CNP0044068	7-bromo-4-(chloromethyl)-2H-chromen-2-one	<chem>O=c1cc(CCl)c2ccc(Br)cc2o1</chem>		0,93
CNP0050175	6-chloro-4-(chloromethyl)-2H-chromen-2-one	<chem>O=c1cc(CCl)c2cc(Cl)ccc2o1</chem>		0,93

COCONUT ID	Nama Senyawa	SMILES	Struktur Senyawa (+MCS berwarna)	Skor Similaritas
CNP0061561	4-(chloromethyl)-6-hydroxy-2H-chromen-2-one	<chem>O=c1cc(CCl)c2cc(O)ccc2o1</chem>		0,93
CNP0161048	N'-[(1,3-benzothiazol-2-yl)methylidene]-4-methylbenzene-1-sulfonohydrazide	<chem>Cc1ccc(S(=O)(=O)NN=Cc2nc3ccccc3s2)cc1</chem>		0,93
CNP0054393	5-amino-3-methanesulfonyl-1-phenyl-1H-pyrazole-4-carbonitrile	<chem>CS(=O)(=O)c1nn(-c2ccccc2)c(N)c1C#N</chem>		0,93
CNP0316537	5-chloroquinolin-8-yl acetate	<chem>CC(=O)Oc1ccc(Cl)c2cccnc12</chem>		0,93
CNP0389503	1-benzyl-1H-indole-3-carboxylic acid	<chem>O=C(O)c1cn(Cc2ccccc2)c2ccc1cc2</chem>		0,93
CNP0061285	4-(chloromethyl)-2H,6H,7H,8H,9H-cyclohexa[g]chromen-2-one	<chem>O=c1cc(CCl)c2cc3c(cc2o1)CC3</chem>		0,92
CNP0062084	6,8-dichloro-4-hydroxy-2H-chromen-2-one	<chem>O=c1cc(O)c2cc(Cl)cc(Cl)c2o1</chem>		0,92

COCONUT ID	Nama Senyawa	SMILES	Struktur Senyawa (+MCS berwarna)	Skor Similaritas
CNP0107403	6-chloro-4-hydroxy- 2H-chromen-2-one	O=c1cc(O)c2cc(Cl)ccc2o1		0,92

Hasil prediksi model RF MACCS menunjukkan bahwa terdapat 30 senyawa yang memiliki skor similaritas dengan kepercayaan >90%. Skor kepercayaan tertinggi diperoleh senyawa 7-bromo-4-(chloromethyl)-2H-chromen-2-one dan isomernya dengan skor 0,93 sedangkan skor terendah diperoleh senyawa N-(3-methylphenyl)-4-[[6-oxo-4-propyl-1,6-dihydropyrimidin-2-yl)sulfanyl]methyl}benzamide dengan skor 0,04. Apabila kita sedikit membedah lebih dalam klasifikasi senyawa top 10 pada Tabel 4 berdasarkan kelas senyawanya, dapat disimpulkan kelas senyawa kumarin dan turunannya, pirazol dan turunannya, naftalena, dan quinoline dan turunannya berpotensi dalam menghambat M^{Pro}. Hasil ini juga didukung oleh beberapa penelitian tentang kelas senyawa ini dapat menghambat M^{Pro} (49–52). Untuk memperkuat skor kepercayaan senyawa-senyawa di atas. Penulis membandingkannya dengan menggunakan model yang sama terhadap keempat kontrol positif: ritonavir, lopinavir, nirmatrelvir, GC 376 protease inhibitor.

Dari hasil prediksi skor similaritas, didapatkan hasil dengan skor tertinggi diperoleh sebagai berikut: GC 376 (0,85) > nirmatrelvir (0,64) > ritonavir (0,57) > lopinavir (0,53). Hal ini memberikan hasil bahwa senyawa-senyawa yang berada minimal di atas skor nirmatrelvir berpotensi sebagai senyawa inhibitor M^{Pro}, dengan tetap mempertimbangkan metabolit sekunder yang mudah didapatkan di tanaman. Perlu diingat, hasil ini juga dapat dikatakan sedikit bias dikarenakan skor yang diperoleh hanya merepresentasikan kesamaan substruktur senyawa NP dengan ligan yang dianggap positif berdasarkan *cut-off*, tidak merepresentasikan potensi aktivitas yang sebenarnya sehingga penelitian terkait penambatan molekular terhadap 30 senyawa ini disarankan untuk dilakukan sekaligus mencari nilai IC50/Ki mereka.

KESIMPULAN

COVID-19 merupakan penyakit yang disebabkan oleh SARS-CoV-2 dan pertama kali menjadi *coronavirus* yang mencetak prestasi pandemi global. Berbagai upaya yang dilakukan untuk mengatasi penyakit ini, namun belum

ada satupun terapi yang spesifik, efektif, dan aman. Oleh karena itu, senyawa produk natural yang memiliki aktivitas antivirus dapat menjadi solusi alternatif. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terdapat 30 senyawa yang dapat menjadi obat yang potensial, di mana 7-bromo-4-(chloromethyl)-2H-chromen-2-one dan isomernya memiliki skor kepercayaan 0,93 terhadap M^{pro}. Selain itu, hasil dari top 10 senyawa PN menunjukkan kelas senyawa kumarin dan turunannya, pirazol dan turunannya, naftalena, dan quinoline dan turunannya berpotensi untuk diteliti lebih jauh.

SARAN

Penelitian ini merupakan langkah yang sangat awal dalam mencari terapi antiviral COVID-19 tertarget M^{pro}. Diperlukan penelitian tambahan terkait penambatan molekuler dan dinamika molekuler untuk mencari tahu nilai IC₅₀/K_i sebelum masuk ke tahap *in vitro* dan *in vivo*. Selain itu, diperlukan juga penelitian mengenai senyawa yang termasuk ke dalam empat kelas teratas, di mana senyawa tersebut mudah diperoleh dan mudah diekstraksi dibandingkan menggunakan senyawa dengan skor kepercayaan tertinggi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis sampaikan kepada Bapak Dr. rer.nat. apt. Adam Hermawan, M.Sc., Dr. B.S. Ari Sudarmanto, M.Si., Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, dan pihak-pihak lainnya yang telah membantu kelancaran penelitian

ini. Keseluruhan alur kerja dan hasil penelitian dapat diunduh pada pranala berikut:

<https://github.com/gpwahyunanda/Natural-Product-LBVS>

DAFTAR PUSTAKA

1. JHU C. COVID-19 Map [Internet]. Johns Hopkins Coronavirus Resource Center. 2022 [cited 2022 Feb 11]. Available from: <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>
2. NHS. SARS (severe acute respiratory syndrome) [Internet]. nhs.uk. 2017 [cited 2022 Feb 11]. Available from: <https://www.nhs.uk/conditions/sars/>
3. Abd El-Aziz TM, Al-Sabi A, Stockand JD. Human recombinant soluble ACE2 (hrsACE2) shows promise for treating severe COVID-19. *Signal Transduct Target Ther*. 2020 Nov 3;5(1):1–2.
4. Clinical Trials. COVID-19 Clinical Trials Drug [Internet]. 2022 [cited 2022 Jan 23]. Available from: https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=2019nCoV&Search=Clear&age_v=&gndr=&type=&rslt=
5. Clinical Trials Arena. Coronavirus treatment: Vaccines/drugs in the pipeline for COVID-19 [Internet]. Clinical Trials Arena. 2020 [cited 2022 Jan 21]. Available from: <https://www.clinicaltrialsarena.com/analysis/coronavirus-MERS-CoV-drugs/>
6. Gautret P, Lagier JC, Parola P, Meddeb L, Mailhe M, Doudier B, et al. Hydroxychloroquine and azithromycin as a treatment of COVID-19: results of an open-label non-randomized clinical trial. *Int J Antimicrob Agents*. 2020;56(1):105949.
7. RAPS. COVID-19 vaccine tracker [Internet]. 2022 [cited 2022 Jan 23]. Available from: <https://www.raps.org/news-and-articles/news-articles/2020/3/covid-19-vaccine-tracker>



8. Akinlalu AO, Chamundi A, Yakumbur DT, Afolayan FID, Duru IA, Arowosegbe MA, et al. Repurposing FDA-approved drugs against multiple proteins of SARS-CoV-2: An in silico study. *Sci Afr*. 2021 Sep;13:e00845.
9. Singh AK, Singh A, Dubey AK. Repurposed Therapeutic Strategies towards COVID-19 Potential Targets Based on Genomics and Protein Structure Remodeling [Internet]. IntechOpen; 2021 [cited 2022 Feb 16]. Available from: <https://www.intechopen.com/online-first/75622>
10. Hoertel N, Sánchez-Rico M, Cougoule C, Gulbins E, Kornhuber J, Carpinteiro A, et al. Repurposing antidepressants inhibiting the sphingomyelinase acid/ceramide system against COVID-19: current evidence and potential mechanisms. *Mol Psychiatry*. 2021 Dec;26(12):7098–9.
11. Kandeel M, Abdelrahman AHM, Oh-Hashi K, Ibrahim A, Venugopala KN, Morsy MA, et al. Repurposing of FDA-approved antivirals, antibiotics, anthelmintics, antioxidants, and cell protectives against SARS-CoV-2 papain-like protease. *J Biomol Struct Dyn*. 2021 Sep;39(14):5129–36.
12. Qamar MT ul, Alqahtani SM, Alamri MA, Chen LL. Structural basis of SARS-CoV-2 3CLpro and anti-COVID-19 drug discovery from medicinal plants. *J Pharm Anal*. 2020 Aug 1;10(4):313–9.
13. Lu J, Chen SA, Khan MB, Brassard R, Arutyunova E, Lamer T, et al. Crystallization of Feline Coronavirus Mpro With GC376 Reveals Mechanism of Inhibition. *Front Chem* [Internet]. 2022 [cited 2022 Apr 24];10. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fchem.2022.852210>
14. Sharun K, Tiwari R, Dhama K. Protease inhibitor GC376 for COVID-19: Lessons learned from feline infectious peritonitis. *Ann Med Surg*. 2020 Dec 28;61:122–5.
15. Mahase E. Covid-19: Pfizer's paxlovid is 89% effective in patients at risk of serious illness, company reports. *BMJ*. 2021 Nov 8;n2713.
16. Mody V, Ho J, Wills S, Mawri A, Lawson L, Ebert MCCJC, et al. Identification of 3-chymotrypsin like protease (3CLPro) inhibitors as potential anti-SARS-CoV-2 agents. *Commun Biol*. 2021 Jan 20;4(1):1–10.
17. Mengist HM, Mekonnen D, Mohammed A, Shi R, Jin T. Potency, Safety, and Pharmacokinetic Profiles of Potential Inhibitors Targeting SARS-CoV-2 Main Protease. *Front Pharmacol* [Internet]. 2021 [cited 2022 Apr 24];11. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphar.2020.630500>
18. Andreani J, Le Bideau M, Duflo I, Jardot P, Rolland C, Boxberger M, et al. In vitro testing of combined hydroxychloroquine and azithromycin on SARS-CoV-2 shows synergistic effect. *Microb Pathog*. 2020;145:104228.
19. Choudhary R, Sharma AK. Potential use of hydroxychloroquine, ivermectin and azithromycin drugs in fighting COVID-19: trends, scope and relevance. *New Microbes New Infect*. 2020;35:100684.
20. Chu CM, Cheng VCC, Hung IFN, Wong MML, Chan KH, Chan KS, et al. Role of lopinavir/ritonavir in the treatment of SARS: initial virological and clinical findings. *Thorax*. 2004 Mar;59(3):252–6.
21. Wang M, Cao R, Zhang L, Yang X, Liu J, Xu M, et al. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. *Cell Res*. 2020 Mar;30(3):269–71.
22. Javelot H, El-Hage W, Meyer G, Becker G, Michel B, Hingray C. COVID-19 and (hydroxy) chloroquine–azithromycin combination: Should we take the risk for our patients? *Br J Clin Pharmacol*. 2020;86(6):1176.
23. BPOM. Potensi Obat Herbal Indonesia [Internet]. 2020 [cited



- 2022 May 6]. Available from: <https://www.pom.go.id/new/view/more/pers/531/Potensi-Obat-Herbal-Indonesia.html>
24. Benarba B, Pandiella A. Medicinal Plants as Sources of Active Molecules Against COVID-19. *Front Pharmacol* [Internet]. 2020 [cited 2022 May 6];11. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fphar.2020.01189>
 25. Tresadern G, Bemporad D, Howe T. A comparison of ligand based virtual screening methods and application to corticotropin releasing factor 1 receptor. *J Mol Graph Model*. 2009 Jul;27(8):860–70.
 26. McGaughey GB, Sheridan RP, Bayly CI, Culberson JC, Kreatsoulas C, Lindsley S, et al. Comparison of Topological, Shape, and Docking Methods in Virtual Screening. *J Chem Inf Model*. 2007 Jul 1;47(4):1504–19.
 27. Hamza A, Wei NN, Zhan CG. Ligand-Based Virtual Screening Approach Using a New Scoring Function. *J Chem Inf Model*. 2012 Apr 23;52(4):963–74.
 28. Gadaleta D, Lombardo A, Toma C, Benfenati E. A new semi-automated workflow for chemical data retrieval and quality checking for modeling applications. *J Cheminformatics*. 2018 Dec 10;10(1):60.
 29. DCIS. Daylight Theory: SMARTS - A Language for Describing Molecular Patterns [Internet]. 2007 [cited 2022 Apr 18]. Available from: <https://www.daylight.com/dayhtml/doc/theory/theory.smarts.html>
 30. Maggiora G, Vogt M, Stumpfe D, Bajorath J. Molecular Similarity in Medicinal Chemistry. *J Med Chem*. 2014 Apr 24;57(8):3186–204.
 31. Massagué AC, Ojeda MJ, Valls C, Mulero M, Garcia-Vallvé S, Pujadas G. Molecular fingerprint similarity search in virtual screening. *Methods*. 2015 Jan;71:58–63.
 32. Bajorath J. Machine learning and similarity-based virtual screening techniques. In: *In Silico Drug Discovery and Design* [Internet]. Future Science Ltd; 2013 [cited 2022 Apr 18]. p. 134–46. (Future Science Book Series). Available from: <https://www.futuremedicine.com/doi/full/10.4155/ebo.12.419>
 33. Mitchell JBO. Machine learning methods in chemoinformatics. *Wiley Interdiscip Rev Comput Mol Sci*. 2014 Sep;4(5):468–81.
 34. Li H, Ung CY, Yap CW, Xue Y, Li ZR, Chen YZ. Prediction of estrogen receptor agonists and characterization of associated molecular descriptors by statistical learning methods. *J Mol Graph Model*. 2006 Nov;25(3):313–23.
 35. Tuerkova A, Zdražil B. A ligand-based computational drug repurposing pipeline using KNIME and Programmatic Data Access: case studies for rare diseases and COVID-19. *J Cheminformatics*. 2020 Nov 25;12(1):71.
 36. Sydow D, Morger A, Driller M, Volkamer A. TeachOpenCADD: a teaching platform for computer-aided drug design using open source packages and data. *J Cheminformatics*. 2019 Apr 8;11(1):29.
 37. Berthold MR, Cebron N, Dill F, Gabriel TR, Kötter T, Meinl T, et al. KNIME - the Konstanz information miner: version 2.0 and beyond. *ACM SIGKDD Explor Newsl*. 2009 Nov 16;11(1):26–31.
 38. Bento AP, Hersey A, Félix E, Landrum G, Gaulton A, Atkinson F, et al. An open source chemical structure curation pipeline using RDKit. *J Cheminformatics*. 2020 Sep 1;12(1):51.
 39. Mysinger MM, Carchia M, Irwin John J, Shoichet BK. Directory of Useful Decoys, Enhanced (DUD-E): Better Ligands and Decoys for Better Benchmarking. *J Med Chem*. 2012 Jul 26;55(14):6582–94.
 40. Cichonska A, Ravikumar B, Allaway RJ, Park S, Wan F, Isayev O, et al. Crowdsourced mapping extends the target space of kinase inhibitors [Internet]. *bioRxiv*; 2020 [cited 2022 Apr 20]. p.



- 2019.12.31.891812. Available from: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2019.12.31.891812v3>
41. PDB. Resolution - Proteopedia, life in 3D [Internet]. 2019 [cited 2022 Apr 20]. Available from: <https://proteopedia.org/wiki/index.php/Resolution>
 42. Lipinski CA. Lead-and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. *Drug Discov Today Technol.* 2004;1(4):337–41.
 43. Hu Y, Stumpfe D, Bajorath J. Computational Exploration of Molecular Scaffolds in Medicinal Chemistry. *J Med Chem.* 2016 May 1;59(9):4062–76.
 44. Yang Y. Chapter 3 - Temporal Data Clustering. In: Yang Y, editor. *Temporal Data Mining Via Unsupervised Ensemble Learning* [Internet]. Elsevier; 2017 [cited 2022 Apr 19]. p. 19–34. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128116548000038>
 45. Nighania K. Various ways to evaluate a machine learning models performance [Internet]. Medium. 2019 [cited 2022 Apr 20]. Available from: <https://towardsdatascience.com/various-ways-to-evaluate-a-machine-learning-models-performance-230449055f15>
 46. Brownlee J. How To Know if Your Machine Learning Model Has Good Performance [Internet]. Machine Learning Mastery. 2018 [cited 2022 Mar 18]. Available from: <https://machinelearningmastery.com/how-to-know-if-your-machine-learning-model-has-good-performance/>
 47. El Khouli RH, Macura KJ, Barker PB, Phil D, Habba MR, Jacobs MA, et al. The Relationship of Temporal Resolution to Diagnostic Performance for Dynamic Contrast Enhanced (DCE) MRI of the Breast. *J Magn Reson Imaging JMRI.* 2009 Nov;30(5):999–1004.
 48. McHugh ML. Interrater reliability: the kappa statistic. *Biochem Medica.* 2012 Oct 15;22(3):276–82.
 49. Alexpandi R, De Mesquita JF, Pandian SK, Ravi AV. Quinolines-Based SARS-CoV-2 3CLpro and RdRp Inhibitors and Spike-RBD-ACE2 Inhibitor for Drug-Repurposing Against COVID-19: An in silico Analysis. *Front Microbiol.* 2020 Jul 23;11:1796.
 50. Lv Z, Cano KE, Jia L, Drag M, Huang TT, Olsen SK. Targeting SARS-CoV-2 Proteases for COVID-19 Antiviral Development. *Front Chem* [Internet]. 2022 [cited 2022 May 6];9. Available from: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fchem.2021.819165>
 51. Negi M, Chawla PA, Faruk A, Chawla V. Role of heterocyclic compounds in SARS and SARS CoV-2 pandemic. *Bioorganic Chem.* 2020 Nov;104:104315.
 52. Özdemir M, Köksoy B, Ceyhan D, Sayın K, Erçağ E, Bulut M, et al. Design and in silico study of the novel coumarin derivatives against SARS-CoV-2 main enzymes. *J Biomol Struct Dyn.* :1–16.

TINGKAT PENGETAHUAN PENGUNAAN OBAT ANTIBIOTIK DI TELUKJAMBE TIMUR KARAWANG

Desi Sintia S., Listia Nurkholifah^{1a}, Naufal Rizal R.¹, Silky Maulina¹, Tegar Wiguna T.¹, Theshinta Berliana W.¹, Warsono¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Buana Perjuangan Karawang, Karawang, Indonesia

^aEmail : FM18.tegartejayanda@mhs.ubpkarawang.ac.id

ABSTRAK

Pendahuluan : Antibiotik adalah obat yang paling sering diresepkan untuk pasien akan tetapi masih banyak dari masyarakat yang belum mengetahui tentang penggunaan antibiotik sehingga menyebabkan ketidak tepatan penggunaan antibiotik dan mengakibatkan terjadinya resistensi obat terhadap kuman.

Metode : Metode penelitian yang digunakan adalah metode deskriptif dengan desain cross sectional. Penelitian dilaksanakan di Teluk Jambe Timur pada bulan Desember 2021. Teknik pengambilan sampel pada penelitian yaitu dengan Accidental sampling dengan kriteria inklusi yaitu berusia 20 – 50 tahun, masyarakat di wilayah teluk jambe timur. Pengambilan data melakukan wawancara secara langsung dengan jumlah responden 30 untuk memperoleh data primer. Responden yang mengikuti penelitian ini berjumlah 30 orang yang merupakan masyarakat Telukjambe Timur dan memenuhi faktor inklusi penelitian.

Hasil : Hasil uji Accidental sampling terdapat hubungan yang bermakna antara jenis kelamin dengan pengetahuan penggunaan obat antibiotik. Perilaku tingkat kesadaran akan kesehatan tidak hanya dipengaruhi oleh sikap, tetapi juga oleh beberapa faktor individual lainnya, dari hasil penelitian ini dapat bahwa responden dilihat berdasarkan pertanyaan persentase tingkat pengetahuan tentang antibiotik lebih tinggi dalam menjawab cara penggunaan obat antibiotik yang baik dan cukup.

Kesimpulan : Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dari 30 responden, tingkat pengetahuan masyarakat di Telukjambe Timur terhadap penggunaan antibiotik berada dalam kategori kurang sebanyak 10 orang (10%), sedangkan pada kategori baik sebanyak 20 orang (20%). Jadi dapat disimpulkan bahwa tingkat pengetahuan masyarakat tentang antibiotik berada dalam kategori cukup.

Kata Kunci : Antibiotik, Pengetahuan, Telukjambe Timur

Abstract

Introduction : Antibiotics are the most frequently prescribed drugs for patients but there are still many people who do not know about the use of antibiotics, causing inaccuracy in the use of antibiotics and resulting in drug resistance to germs.

Methods: The research method used is descriptive method with cross sectional design. The study was carried out in East Jambe Bay in December 2021. The sampling technique in this study was accidental sampling with inclusion criteria of 20-50 years old, people in the East Jambe Bay area. Data retrieval conducted direct interviews with the number of respondents 30 to obtain primary data. Respondents who took part in this study found 30 people who were members of the East Telukjambe community and met the research inclusion factors.



Results: *The results of the accidental sampling test showed a significant relationship between gender and knowledge of the use of antibiotics. The level of health awareness is not only influenced by attitude factors, but also by several other individuals, from the results of this study it can be seen that respondents have a higher level of knowledge about antibiotics in answering how to use good and sufficient antibiotics.*

Conclusion: *Based on the research results obtained from 30 respondents, the level of knowledge of the people in Telukjambe Timur towards the use of antibiotics is in the less category as many as 10 people (10%), while in the good category as many as 20 people (20%). So it can be said that the category of public knowledge about antibiotics is in sufficient.*

Keywords: *Antibiotics, Knowledge, EastTelukJambe*

PENDAHULUAN

Antibiotik adalah obat yang paling sering diresepkan untuk pasien akan tetapi masih banyak dari masyarakat yang belum mengetahui tentang penggunaan antibiotik sehingga menyebabkan ketidaktepatan penggunaan antibiotic dan mengakibatkan terjadinya resistensi obat terhadap kuman(1)

Pengetahuan masyarakat mengenai resistensi dari antibiotik masih sangat minim(1).WHO (2015) menyatakan bahwa Indonesia merupakan salah satu dari 12 negara yang berhenti meminum antibiotik setelah merasa sembuh dengan persentase 53-62%(2). Ketidaktepatan pemakaian obat ini akan menyebabkan resistensi obat dimana itu akan menjadi kesalahan dan ancaman terbesar bagi kesehatan global, WHO membuat kampanye global mengenai penggunaan antibiotik yang benar untuk meningkatkan kesadaran dari masyarakat mengenai penggunaan antibiotik. Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan di Bukittinggi (3),mengambil sampel sebanyak 100 responden yang berusia

17-65 tahun. Hasil persentasi tingkat pengetahuan masyarakat mengenai penggunaan antibiotik ialah sebanyak 17% atau 17 orang masuk kedalam kategori kurang, 60 % atau 60 orang masuk kedalam kategori cukup dan yang masuk kedalam kategori baik sebanyak 23 orang atau 23%(4). Maka kesimpulan dari penelitian ini bahwa pengetahuan masyarakat mengenai penggunaan atibiotik berada dalam kategori cukup. Kemudian pada penelitian yang dilaksanakan(4) dengan karakteristik responden dengan usia 18-55 tahun dengan pekerjaan yang berbeda-beda seperti wiraswasta, PNS, Ibu rumah tangga, pelajar dan Petani. Penelitian dilakukan berdasarkan beberapa indikator seperti indikasi, cara penggunaan, efek samping dan penyimpanan antibiotik maka persentase hasil yang didapat berdasarkan indikasi 52% memiliki kategori cukup, pada cara penggunaan antibiotik 58,2% memiliki kategori cukup, sedangkan pada persentase pemakaian efek samping antibiotik nilai rata-ratanya 52,2% memiliki kategori cukup dan pada



tingkat pengetahuan antibiotik berdasarkan penyimpanan ialah 59,4% memiliki kategori cukup.(5)

Berdasarkan latar belakang diatas, dapat dinyatakan bahwa pengetahuan masyarakat mengenai pemakaian antibiotik tergolong sangat minim. Hal ini mendorong peneliti untuk melakukan penelitian di daerah Teluk Jame Timur untuk mengetahui tingkat pengetahuan dari masyarakat mengenai penggunaan antibiotik.

METODE PENELITIAN

Metode penelitian yang digunakan adalah metode deskriptif dengan desain cross sectional . Penelitian dilaksanakan di Telukjame Timur pada bulan Desember 2021. Teknik pengambilan sampel pada penelitian yaitu dengan Accidental sampling dengan kriteria inklusi yaitu berusia 20 – 50 tahun, masyarakat di wilayah teluk jame timur. Pengambilan data melakukan wawancara secara langsung dengan jumlah responden 30 untuk memperoleh data primer. Responden diberikan pertanyaan secara langsung yang terdiri dari 5 pertanyaan. Setelah selesai dijawab, data yang diperoleh dari pertanyaan tersebut dianalisis secara deskriptif. Kategori tingkat pengetahuan disusun berdasarkan klasifikasi yang dipaparkan oleh Budiman dan Riyanto pada tahun 2013, yaitu kategori baik jika

nilainya $\geq 75\%$, kategori cukup jika nilainya 56-74% dan kategori kurang jika nilainya $< 55\%$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Responden berdasarkan jenis kelamin

Jenis kelamin	Jumlah	
	Reseponden (orang)	Persentasi
Laki-laki	15	50%
Perempuan	15	50%
Total	30	100%

Tabel 2. Responden berdasarkan umur

Umur	Jumlah	
	Responder (orang)	Persentase
20-25	3	10%
26-30	7	23%
31-35	9	30%
36-40	6	20%
>40	5	17%
Total	30	100%

Tabel 3. Responden berdasarkan pertanyaan

Tingkat pengetahuan	Jumlah	
	Responder (orang)	Persentase
P_1		
Mengetahui	24	80%
Tidak mengetahui	6	20%
Total	30	100%
P_2		
Mengetahui	17	57%
Tidak mengetahui	13	43%
Total	30	100%
P_3		
Mengetahui	23	77%
Tidak mengetahui	7	23%
Total	30	100%
P_4		
Mengetahui	14	47%
Tidak mengetahui	16	53%
Total	30	100%

4. Tingkat Pengetahuan tentang Antibiotik

Pengetahuan Umum	Nilai benar	%
Definisi antibiotik	80	83
Contoh obat antibiotik	91	94,8
Contoh obat yang bukan antibiotik	52	54,2
Apakah semua penyakit harus diobati dengan antibiotik	40	41,7
Definisi Resistensi	66	68,7
Cara memperoleh antibiotik		
Apakah membeli antibiotik tanpa resep dokter itu diperbolehkan	65	67,7
Cara penggunaan antibiotik		
Cara mengkonsumsi antibiotik yang benar	48	50
Antibiotik amoksisilin boleh diminum bersama susu	40	41,7
Tindakan jika lupa minum antibiotik	38	39,6
Kontraindikasi		
Apakah antibiotik tetrasiklin boleh diminum oleh ibu hamil	76	79,2
Efek samping		
Tindakan jika terjadi efek samping antibiotik	82	85,4

Responden yang mengikuti penelitian ini berjumlah 30 orang yang merupakan masyarakat Telukjambe Timur dan memenuhi faktor inklusi penelitian. Hasil uji Accidental sampling terdapat hubungan yang bermakna antara jenis kelamin dengan pengetahuan penggunaan obat antibiotik. Perilaku tingkat kesadaran akan kesehatan tidak hanya dipengaruhi oleh sikap, tetapi juga oleh beberapa faktor individual lainnya, dari hasil penelitian ini dapat bahwa responden dilihat berdasarkan pertanyaan persentase tingkat pengetahuan tentang antibiotik lebih tinggi dalam menjawab cara penggunaan obat antibiotik yang baik dan cukup.

Antibiotik adalah zat yang berasal dari mikroba yang dapat menghambat bahkan membunuh mikroba.

Berdasarkan tabel 2 menunjukkan bahwa Masyarakat di Telukjambe Timur memiliki pengetahuan yang baik (83%). Hasil termasuk lebih tinggi jika dibandingkan dengan penelitian sebelumnya tentang tingkat pengetahuan antibiotik yang dengan responden mahasiswa ilmu kesehatan di Universitas Gadjah Mada menunjukkan bahwa 79% responden mengenal antibiotik. Penelitian ini tidak menunjukkan data karakteristik semester yang sedang ditempuh responden, sehingga tidak dapat menunjukkan kaitan antara pengenalan antibiotika dan semester yang sedang ditempuh. Sedangkan terkait contoh obat antibiotik memiliki nilai benar yang tinggi (94,8%). Responden banyak menyebutkan jenis antibiotika yang dikenal adalah amoksisilin. Hal ini sesuai dengan beberapa hasil penelitian yang

menyatakan bahwa amoksisilin merupakan antibiotika yang paling banyak dikenal sekaligus dipakai oleh masyarakat baik melalui peresepan maupun penggunaannya tanpa resep untuk pengobatan mandiri. Sedangkan pengetahuan mengenai contoh obat bukan antibiotik kurang baik (54,2%).

Selain itu pengetahuan tentang penyakit harus diobati dengan antibiotik menunjukkan hasil yang kurang baik (41,7%). Berbeda dengan penelitian sebelumnya mahasiswa ilmu kesehatan di Universitas Gadjah Mada menunjukkan bahwa 82% paham jika antibiotik digunakan untuk infeksi. (5) Pemahaman lain mengenai resistensi bakteri 68,7% cukup baik. Beberapa responden menunjukkan bahwa semua penyakit dapat diobati dengan antibiotik. Masyarakat sudah cukup paham makna resistensi yaitu kebal akan antibiotik. Menurut WHO resistensi antibiotik yaitu kondisi yang terjadi bila kuman atau mikroorganisme seperti bakteri, virus, jamur, dan parasit berubah sehingga memiliki kemampuan untuk membuat obat-obat untuk mengobati infeksi menjadi tidak efektif. (5)

Sedangkan pengetahuan tentang Cara memperoleh antibiotik dengan resep dokter sudah cukup baik (67,7%). Beberapa mahasiswa menunjukkan bahwa cara memperoleh antibiotik tanpa resep dokter bisa dilakukan. Hasil penelitian Putri CK, 2017 masyarakat memberikan alasan sudah mengetahui

obatnya dan lebih mudah membeli antibiotik secara bebas di apotek tanpa harus pergi ke dokter terlebih dahulu.

Cara konsumsi antibiotik yang benar yang benar sejumlah 50%. Nilai ini menunjukkan pengetahuan masyarakat yang kurang. Konsumsi antibiotik yang benar adalah sesuai dengan aturan jam waktu dan dikonsumsi sampai habis. Pada umumnya yang diketahui masyarakat adalah konsumsi obat antibiotik berdasarkan jam makan dan jika sudah sembuh maka obat antibiotik tidak perlu dihabiskan.

Terkait interaksi antibiotik dan susu hasil menunjukkan kurang baik (41,7%). Beberapa antibiotik yaitu tetrasiklin dan golongan kuinolon merupakan jenis antibiotik yang tidak disarankan untuk dikonsumsi dengan susu. Hal ini dikarenakan kalsium dalam susu mengikat zat aktif dalam obat antibiotik.

Pengetahuan masyarakat tentang tindakan jika lupa konsumsi obat kurang baik (39,6%). Yang dipahami yaitu jika lupa konsumsi obat maka diabaikan. Hal ini dapat mengakibatkan kerja obat menjadi tidak maksimal. Sehingga sebaiknya jika lupa konsumsi antibiotik maka segera minum saat mengingat. Selain itu hal yang perlu diketahui adalah terkait kontraindikasi (79,2%) dan efek samping (85,4%) menunjukkan bahwa pengetahuan masyarakat baik.



Secara keseluruhan tingkat pengetahuan masyarakat di Telukjambe Timur cukup baik. Hasil ini menunjukkan perlu adanya upaya guna meningkatkan pemahaman mengenai antibiotika pada mahasiswa kesehatan. Hal ini sangat penting karena masyarakat tersebut akan terus-menerus menggunakan obat antibiotic apabila sakit nantinya yang dipandang oleh masyarakat sebagai sumber informasi mengenai kesehatan. Salah satu upaya yang dapat dilakukan berupa kajian kurikulum serta kegiatan lain yang mendukung pengenalan antibiotik.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dari 30 responden, tingkat pengetahuan masyarakat di Telukjambe Timur terhadap penggunaan antibiotik berada dalam kategori kurang sebanyak 10 orang (10%), sedangkan pada kategori baik sebanyak 20 orang (20%). Jadi dapat disimpulkan bahwa tingkat pengetahuan masyarakat tentang antibiotik berada dalam kategori cukup.

DAFTAR PUSTAKA

1. Depkes Republik Indonesia. Undang-undang Republik Indonesia nomor 36 tahun 2009 tentang Kesehatan. Jakarta Republik Indonesia. 2009;
2. Tjay TH, Rahardja K. Obat-obat Penting: Khasiat, Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya. Elex Media Komputindo; 2007.
3. Organization WH. Community-Based Surveillance of Antimicrobial Use and Resistance in Resource-Constrained Settings: Report on Five Pilot Projects. World Health Organization; 2009.
4. Katzung BG. Farmakologi Dasar dan Klinik. Edisi XIII. Buku 3. Transl Basic Clin Pharmacol Eight Ed. 2004;229–31.
5. Lim KK, Teh CC. A Cross Sectional Study of Public Knowledge and Attitude Towards Antibiotics in Putrajaya, Malaysia. South Med Rev. 2012;5(2):26.
6. Kemenkes Republik Indonesia. Pedoman Umum Penggunaan Antibiotik. Jakarta Kementerian Kesehatan Republik Indones. 2011;
7. Manan S. Tingkat Pengetahuan Masyarakat tentang Penggunaan Antibiotik di Desa Daenaa Kecamatan Limboto Barat Tahun 2012. Skripsi. 2012;1(821309003).
8. Sholihan Y. Tingkat Pengetahuan Tentang Antibiotik pada Pengunjung Apotek di Kecamatan Jebres Kota Surakarta. Universitas Muhammadiyah Surakarta; 2015.
9. Shehadeh M, Suaifan G, Darwish RM, Wazaify M, Zaru L, Alja'fari S. Knowledge, Attitudes and Behavior Regarding Antibiotics Use and Misuse Among Adults in The Community of Jordan. A Pilot Study. Saudi Pharm J. 2012 ; 20 (2):125–33.
10. Widayati A, Suryawati S, de Crespigny C, Hiller JE. Knowledge and Beliefs about Antibiotics Among People in Yogyakarta City Indonesia: a Cross Sectional Population-based Survey. Antimicrob Resist Infect Control. 2012;1(1):38.
11. Strom BL, Kimmel SE. Textbook of Pharmacoepidemiology/editors,



12. Brian L. Strom and Stephen E. Kimmel. 2006.
13. Notoatmodjo S. Metodologi Penelitian Kesehatan. Jakarta: rineka cipta; 2010.
14. Pratiwi RI, Rustamadji R, Widayati A. Pengetahuan Mengenai Antibiotika di Kalangan Mahasiswa Ilmu–Ilmu Kesehatan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. *J Farm Sains dan Komunitas (Journal Pharm Sci Community)*. 2016;10(2).
15. Awad A, Eltayeb I, Matowe L, Thalib L. Self-medication with Antibiotics and Antimalarials in The Community of Khartoum State, Sudan. *J Pharm Pharm Sci*. 2005;8(2):326–31.
16. Putri CK. Evaluasi Tingkat Pengetahuan Masyarakat tentang Penggunaan Antibiotik di Kabupaten Klaten Universitas MuhammadiyahSurakarta. Skripsi.Universitas Muhammadiyah Surakarta. 2017;
17. Yulia, Rahma *et al.* Studi Tingkat Pengetahuan Masyarakat Terhadap
18. Penggunaan Antibiotik di Puskesmas Rasimah Ahmad Bukitinggi. *Journal of Pharmaceutical and Sciences (JPS)*. 2019. Vol 2(2). Hlm: 43-48
19. Faidah, Nur. Tingkat Pengetahuan Masyarakat Tentang Penggunaan Antibiotik di Kelurahan Geneng Kecamatan Mijen Kabupaten Demak. *Indonesian Journal of Pharmacy and Natural Product*.2020. Hlm : 1-10
20. Notoatmodjo, S. 2010. Metodologi Penelitian Kesehatan. Rineka Cipta
21. Parse, Rocci Jack, Hidayat, Eva Mardiana, & Alisjahbana, B. (2017). Knowledge, Attitude and Behavior Related to Antibiotic Use in Community Dwellings. *Althea Medical Journal*, 4(2).
22. Swastinitya, A., Kurniasari, D., Amalia, F., Saleh, L., & Huraiby, A. (2013). Pengetahuan dan Perilaku Pengunjung Puskesmas dan Tenaga Kesehatan terhadap Penggunaan Antibiotik pada ISPA. *Kedokteran Indonesia*, 1(2)

INHIBISI DNMT3B UNTUK MENGHAMBAT PERKEMBANGAN SEL KANKER KULIT DENGAN SENYAWA MINYAK ATSIRI KAYU MANIS MELALUI STUDI IN SILICO DAN PROTEOMIK

Khusnul Agustina^{1a}, Putri Anggraini Budianto¹, Christopher Filando Santoso¹, Rumiya¹

¹Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta, Indonesia

^aEmail Korespondensi :agustinakhusnul@gmail.com

ABSTRAK

Pendahuluan: Kayu manis (*Cinnamomum cassia*) merupakan tanaman obat yang banyak dimanfaatkan menjadi bahan obat karena kandungan zat antioksidan yang terkandung didalamnya. Paparan dari sinar UV yang berlebihan pada kulit dapat berdampak buruk, dan salah satu dampak bahayanya adalah kanker kulit. Sinar UV dapat meningkatkan ekspresi protein DNMT3B dan juga kadar ROS. Namun, pengobatan kanker yang menarget DNMT terutama DNMT3B belum banyak dieksplorasi, sehingga penelitian ini dimaksudkan untuk mengeksplorasi potensi minyak atsiri kayu manis dalam menarget protein DNMT3B dalam penghambatan perkembangan sel kanker kulit akibat paparan sinar matahari yang berlebihan.

Metode: Penelitian dilaksanakan melalui pendekatan *in silico* dan proteomik. Bahan riset diperoleh dari berbagai basis data yang diantaranya adalah CMAUP, ChEMBL, PubChem, Google Scholar, PubMed, dan RCSB. Bahan yang telah diperoleh kemudian diolah menggunakan bantuan perangkat lunak KNIME dan MOE V.2010.

Hasil: Terdapat empat senyawa aktif minyak atsiri kayu manis memiliki banyak kesamaan struktur dengan kedua obat inhibitor DNMT3B (azatisidin dan desitabin), dan 3 diantaranya yaitu *cinnamaldehyde*, *cis-2-methoxycinnamic acid*, dan *coumarine* diprediksi dapat menghambat DNMT3B dengan baik. Selain itu, ditinjau dari interaksi ikatannya dengan DNMT3B menggunakan perangkat lunak MOE, *cis-2-methoxycinnamic acid* memiliki ikatan yang lebih stabil apabila dibandingkan dengan ligan alaminya DNMT3B itu sendiri (gliserol).

Kesimpulan: Kandungan zat aktif minyak atsiri kayu manis diperkirakan mampu menghambat protein DNMT3B dalam penghambatan perkembangan sel kanker kulit dengan perkiraan senyawa paling potennya adalah *cis-2-methoxycinnamic acid*.

Kata kunci: kayu manis, kanker kulit, DNMT3B, *cis-2-methoxycinnamic acid*.

ABSTRACT

Introduction: Cinnamon (*Cinnamomum cassia*) is often used as a medicinal plant because of its antioxidant properties. UV overexposure leads to many harmful impacts, one of them being the increase in the rate of skin cancer risk. UV rays increase DNMT3B expression and ROS level. However, anti-skin cancer drugs that target DNMT3B have not been explored yet, and this study aims to explore cinnamon essential oil's potency in targeting DNMT3B to stop UV-induced skin cancer development.

Methods: The research was carried out through an *in silico* and proteomic approach. Research materials were obtained from various databases including CMAUP, ChEMBL, PubChem, Google Scholar, PubMed, and RCSB. The materials that have been obtained are processed using KNIME and MOE V.2010 software.

Result: As a result, KNIME analysis showed many similarities between four of cinnamon's active compounds and DNMT3B inhibitors (azacytidine and decitabine). Three of the essential oil compounds; *Cinnamaldehyde*, *cis-2-methoxy cinnamic acid*, and *coumarin* are

predicted to inhibit DNMT3B. Moreover, using the molecular docking approach, cis-2-methoxy cinnamic acid has more stable bonds compared to its native ligand (glycerol).

Conclusion: *In conclusion, the active compounds in cinnamon essential oil were potential to inhibit DNMT3B and prevent skin cancer development with cis-2-methoxy cinnamic acid as the most potent inhibitory compound.*

Keywords: *Cinnamon, skin cancer, DNMT3B, cis-2-methoxycinnamic acid.*

PENDAHULUAN

Metilasi DNA merupakan proses penambahan gugus metil yang dapat mengubah aktivitas ekspresi gen. Salah satu enzim yang mengkatalisis proses ini adalah DNA *methyltransferase* 3B. Proses ini dapat mengalami gangguan yang menyebabkan penyimpangan metilasi DNA. Penyimpangan ini dapat berupa hipermetilasi dan hipometilasi.^[1] Pada kanker, hipometilasi dan hipermetilasi merupakan penanda yang fundamental. Hipermetilasi DNA adalah mekanisme yang dapat menginduksi peredaman *tumor suppressor gene*, sedangkan hipometilasi DNA adalah mekanisme yang berkontribusi dalam overekspresi onkogen.^[2]

Penelitian yang sudah dilakukan menunjukkan bahwa ekspresi dari DNA *methyltransferase* 3B (DNMT3B) naik secara signifikan akibat paparan dari sinar ultraviolet B (UVB). Hal tersebut berawal dari kenaikan produksi *reactive oxygen species* (ROS) dan mengakibatkan terjadinya hipermetilasi pada protein P16INK4 yang merupakan *tumor suppressor gene* teredam, sehingga memicu terjadinya kanker kulit.^{[3][4]} Proses tersebut merupakan salah satu mekanisme

fotokarsinogenesis, yang mana fotokarsinogenesis dapat didefinisikan sebagai proses berkembangnya kanker kulit yang disebabkan oleh paparan sinar UV.^[5] Kasus kanker kulit 5 tahun terakhir (2015-2020) di Indonesia mencapai angka 4331 kasus dan kasus yang baru muncul pada tahun 2020 mencapai angka 1609 dengan angka kematian mencapai 699 diantaranya.^[6]

Azacitidine dan *Decitabine* merupakan 2 obat yang baru mendapat persetujuan dari FDA (*Food Drug Administration*) yang mana kedua obat tersebut dapat menghambat dan menurunkan ekspresi dari DNMT3B.^[7] Antara kedua obat tersebut, *Decitabine* terbukti lebih poten daripada *azacitidine*, namun hal tersebut mengarah pada hipometilasi DNA dan kerusakan DNA dalam konsentrasi dua hingga sepuluh kali lipat lebih rendah dari *azacitidine*.^[8] Maka dari itu *Decitabine* memiliki efek dapat menginduksi kerusakan DNA dan sitotoksitas apabila diberikan pada dosis tinggi (dosis yang biasa digunakan pada pasien kanker).^[7]

Kayu manis (*Cinnamomum cassia*) merupakan tanaman obat yang tidak hanya digunakan untuk konsumsi sehari-



hari, namun juga dapat dijadikan sebagai bahan untuk dijadikan produk obat.^[9] Minyak atsiri yang didapat dari kayu manis mengandung banyak senyawa aktif yang diantaranya adalah *cinnamaldehyde*, *cis-2-methoxycinnamic acid*, *cinnamyl acetate*, dan sebagainya.^[10] Senyawa aktif minyak atsiri kayu manis tersebut memiliki aktivitas farmakologi yang penting, salah satunya adalah aktivitas antioksidan.^[11] Tingginya level ROS dapat menyebabkan stres oksidatif dengan menyebabkan ketidakseimbangan antara kadar antioksidan dan prooksidan, sehingga dapat dikatakan bahwa senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan dapat mencegah stres oksidatif.^[12]

Oleh karena itu dapat dikatakan bahwa senyawa yang terkandung dalam minyak atsiri kayu manis memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan sel kanker kulit akibat fotokarsinogenesis dengan menarget protein DNMT3B. Dikarenakan obat yang menarget DNMT3B sendiri masih belum banyak diteliti dan mendapat persetujuan oleh badan-badan internasional seperti FDA, maka pengujian aktivitas inhibisi DNMT3B dari senyawa minyak atsiri kayu manis dapat menjadi pengetahuan baru dalam pengembangan pengobatan terapi epigenetik.

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan melalui pendekatan *in silico* yang mana

penelitian dilakukan menggunakan bantuan komputer yang mana pada penelitian menggunakan Laptop ASUS VivoBook S14 dengan spesifikasi Intel® Core (™) i5, Software Windows 10. Selain itu, dilakukan juga studi proteomik untuk mengkaji protein target. Bahan-bahan riset diperoleh dari berbagai basis data yang diantaranya adalah CMAUP, ChEMBL dan PubChem untuk memperoleh kode SMILE dari masing-masing senyawa uji; Google Scholar dan PubMed untuk mencari profil metabolomik *C. cassia*; serta RCSB untuk memperoleh stuktur 3D dari protein target. Bahan yang telah diperoleh kemudian diolah menggunakan bantuan perangkat lunak KNIME dan MOE V.2010.

HASIL

3.1 Profil metabolomik minyak atsiri kayu manis

Tujuan dari pencarian profil metabolomik ini adalah untuk mencari senyawa yang terkandung dalam kayu manis beserta informasi kelimpahan dari masing-masing senyawa. Tabel 1 menunjukkan profil metabolomik kayu manis yang telah dirangkum dari 3 studi pustaka yang berbeda dan menghasilkan %area GC-MS yang berbeda-beda karena pelaksanaan ekstraksi minyak esensial yang berbeda-beda dari ketiganya. Dari ketiga studi yang berbeda diambil 2 senyawa dengan kelimpahan tertinggi pada setiap studi yang diantaranya adalah *cinnamaldehyde*, *cis-2-*



methoxycinnamic acid, o-methoxycinnamaldehyde, dan coumarin.

Tabel 1. Profil metabolomik minyak atsiri kayu manis

Senyawa	Kelimpahan (%area GC-MS)		
	Chang dkk., 2013	Liang dkk., 2019	Wang dkk., 2009
<i>cinnamaldehyde</i>	42.37	62.96	30.36
<i>cis-2-methoxycinnamic acid</i>	43.06	-	-
<i>cinnamyl acetate</i>	1.83	0.40	-
<i>o-methoxycinnamaldehyde</i>	5.11	-	25.39
<i>benzaldehyde</i>	-	0.21	0.10
<i>coumarin</i>	1.25	5.26	-
<i>procyanidin B1</i>	-	0.29	-
<i>acetaldehyde</i>	-	-	0.47

3.2 Perbandingan obat inhibitor DNMT3B dengan senyawa minyak atsiri kayu manis

Tabel 2 menunjukkan nilai kesamaan struktur antara senyawa minyak atsiri kayu manis dengan obat inhibitorynya.

Berdasarkan hasil yang diperoleh, keempat senyawa yang diuji menghasilkan nilai yang mendekati 1 dengan nilai kesamaan struktur tertingginya ada pada kesamaan antara senyawa *o-methoxycinnamaldehyde* dengan *Decitabine*

Tabel 2. Nilai kesamaan struktur antara senyawa minyak atsiri kayu manis dengan obat inhibitor DNMT3B

No	Senyawa	Nilai kesamaan struktur dengan Obat inhibitor DNMT3B	
		<i>Azacitidine</i>	<i>Decitabine</i>
1	<i>Cinnamaldehyde</i>	0.941	0.942
2	<i>Cis-2-Methoxycinnamic acid</i>	0.895	0.897
3	<i>o-methoxycinnamaldehyde</i>	0.947	0.948
4	<i>Coumarin</i>	0.880	0.882

3.3 Perbandingan obat inhibitor DNMT3B dengan senyawa minyak atsiri kayu manis

Hasil *random forest (RF)* model

menunjukkan bahwa terdapat 45 dari 49 data mengenai IC50 dari penghambatan protein DNMT3B yang dapat diklasifikasikan dengan benar.



Tabel 3. *Random forest model* protein DNMT3B

<i>Overall accuracy</i>	<i>Overall error</i>	<i>Correctly classified</i>	<i>Incorrectly classified</i>
91.84%	8.16%	45	4

Kemudian, model RF yang telah dibuat digunakan untuk menentukan nilai prediksi inhibisi senyawa minyak atsiri kayu manis, dan telah didapatkan hasil

sebanyak 16 senyawa dengan masing-masing nilai prediksinya. Dari keenambelas senyawa, seluruhnya memiliki nilai prediksi yang baik (mendekati 1,00). Dua diantaranya merupakan *cis-2-methoxycinnamic acid* dan *cinnamaldehyde* yang merupakan senyawa dalam minyak atsiri kayu manis dengan kelimpahan yang besar.

Tabel 4. Nilai prediksi inhibisi senyawa minyak atsiri kayu manis

No	Senyawa	Nilai Prediksi
1	<i>Protocatechuic Acid</i>	0.92
2	<i>Ethyl Cinnamate</i>	0.92
3	<i>Cinnamic acid</i>	0.92
4	<i>O-Coumaric Acid</i>	0.92
5	<i>Cis-2-Methoxycinnamic Acid</i>	0.91
6	<i>Cinnamaldehyde</i>	0.91
7	<i>2-Hydroxycinnamaldehyde</i>	0.91
8	<i>1-Methoxy-4-[(Z)-Prop-1-Enyl]Benzene</i>	0.90
9	<i>Coniferyl Aldehyde</i>	0.90
10	<i>(E)-3-(2-Methoxyphenyl)Prop-2-Enal</i>	0.90
11	<i>Styrene</i>	0.89
12	<i>Linalool</i>	0.89
13	<i>Coumarin</i>	0.87
14	<i>Epicatechin Gallate</i>	0.87
15	<i>Procyanidin B1</i>	0.84
16	<i>Procyanidin B2</i>	0.84
17	<i>Procyanidin C1</i>	0.84

3.4 Interaksi senyawa minyak atsiri kayu manis dengan protein DNMT3B beserta *native ligand* nya

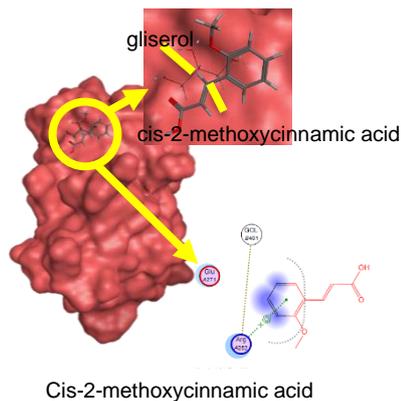
Tabel 5. Hasil *molecular docking* antara senyawa minyak atsiri kayu manis dengan protein DNMT3B beserta *native ligand* nya

Senyawa	RMSD (Å)	S (kcal/mol)
<i>Cinnamaldehyde</i>	1.8736	-5.1662
<i>Cis-2-Methoxycinnamic Acid</i>	1.7874	-7.3320
<i>Gliserol (native ligand)</i>	1.9640	-6.2414

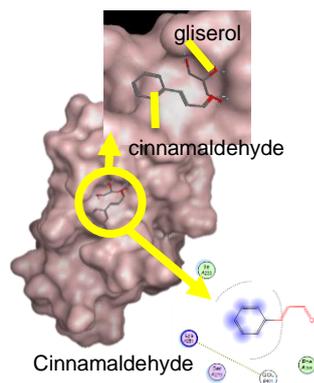
Tabel 5 menunjukkan hasil *molecular docking* yang diperoleh menggunakan bantuan perangkat lunak MOE V.2010. *Cis-2-methoxycinnamic Acid* merupakan senyawa *C. cassia* dengan *docking score* yang paling baik, bahkan lebih baik dari

pada *native ligand* DNMT3B sendiri. Sehingga dapat dikatakan bahwa ikatan antara *cis-2 methoxycinnamic acid* dengan DNMT3B lebih stabil dibandingkan dengan *native ligand*nya.





Gambar 1. Visualisasi 3D dan 2D *molecular docking* dari *cis-2 methoxycinnamic acid*



Gambar 2. Visualisasi 3D dan 2D *molecular docking* dari *cinnamaldehyde*

Potensi senyawa minyak atsiri kayu manis dalam penghambatan protein DNMT3B

DNMT3B merupakan protein yang berfungsi untuk mengkatalisis proses metilasi DNA, dimana proses tersebut dapat terjadi penyimpangan seperti hipermetilasi. Hipermetilasi ini dapat menyebabkan kanker, salah satunya adalah kanker kulit.^[5] Hipermetilasi diawali dengan naiknya level ROS yang menyebabkan ekspresi yang berlebihan dari DNMT3B dan menyebabkan hipermetilasi berujung pada peredaman dari *tumor suppressor gene* (P16INK4A).

Peredaman P16INK4A dapat menyebabkan pertumbuhan kanker kulit.

Cinnamomum cassia merupakan tanaman obat yang memiliki aktivitas farmakologi sebagai antioksidan,^[11] yang dapat mencegah stres oksidatif akibat tingginya level ROS.^[12] Minyak esensial serai wangi mengandung banyak senyawa aktif penting, yang diantaranya memiliki kelimpahan terbesar adalah *cinnamaldehyde*, *cis-2-methoxycinnamic acid*, *omethoxycinnamaldehyde*, dan *coumarin*.^{[13][14][15]}

Sejauh ini hanya terdapat 2 obat inhibitor DNMT3B yang baru mendapat persetujuan dari FDA yaitu *azacytidine* dan *decitabine*.^[7] Berdasarkan kesamaan strukturnya, hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kesamaan struktur berdasarkan *fingerprint* antara keempat senyawa minyak atsiri kayu manis dengan kedua obat inhibitorynya memiliki nilai kesamaan yang cukup tinggi, dimana mendekati 1 yaitu ada pada rentang 0.880-0.948 yang artinya struktur antara kedua senyawa tersebut semakin mirip. Kesamaan struktur tertingginya adalah antara senyawa *o-methoxycinnamaldehyde* dengan *decitabine*. *Decitabine* merupakan obat inhibitor DNMT3B yang lebih poten dibandingkan dengan *azaticidine*, namun lebih memiliki efek toksik dan juga dapat menginduksi kerusakan DNA.^[8]

Random Forest model (RF model)

merupakan model struktur yang dibuat dengan *machine learning random forest* yang mana model nya dibuat berdasarkan senyawa yang memiliki aktivitas inhibisi dari protein DNMT3B berdasarkan *fingerprint* yang khas pada masing-masing senyawa. Tabel 3. Menunjukkan bahwa RF model yang dihasilkan menunjukkan overall accuracy sebesar 91.84% Sehingga dapat dikatakan bahwa model yang dihasilkan akurat. Model RF tersebut kemudian digunakan untuk menentukan nilai prediksi inhibisi senyawa minyak atsiri kayu manis dan menghasilkan data bahwa *Cinnamaldehyde*, *cis-2-methoxycinnamic acid*, dan *coumarine* merupakan senyawa yang memiliki nilai prediksi inhibisi DNMT3B yang cukup tinggi setelah ditelusuri. Senyawa *cinnamaldehyde* dan *cis-2-methoxycinnamic acid* merupakan 2 senyawa yang nilai prediksi inhibisinya mendekati 1 yaitu 0.91, dimana semakin mendekati 1 maka artinya senyawa tersebut diprediksi dapat menginhibisi protein target. Dari kedua pengujian tersebut, disaring 2 senyawa yang memiliki potensi tertinggi yaitu *cinnamaldehyde* dan *cis-2-methoxycinnamic acid*. *Cinnamaldehyde*, diketahui memiliki kemampuan dapat sebagai anti-oksidan, anti-tirosinase dan *antimelanogenic* pada sel melanoma.^[16] Sedangkan untuk senyawa *cis-2-methoxycinnamic acid* belum banyak diketahui potensinya.

Menariknya, ketika dilakukan pengujian lebih lanjut mengenai interaksi antara senyawa minyak atsiri kayu manis dengan protein DNMT3B, dari kedua senyawa yang unggul ketika diuji menggunakan perangkat lunak KNIME, *cis-2-methoxycinnamic acid* diketahui memiliki ikatan yang stabil dengan protein DNMT3B. Nilai yang ditinjau pada penelitian ini berfokus pada nilai RMSD nya dan S atau *docking score* nya. RMSD merupakan nilai yang menunjukkan validitas dari hasil *docking* yang mana nilai RMSD yang baik adalah yang kurang dari 2. Sedangkan *docking score* merupakan nilai yang dapat memprediksi energi ikatan dan afinitas ikatan. Semakin kecil nilai *docking* maka semakin baik dan stabil ikatan keduanya, karena energi yang diperlukan untuk berikatan semakin kecil. Ditinjau dari tabel 5., nilai *docking* dari ikatan *cis-2-methoxycinnamic acid* adalah sebesar -7.3320, lebih rendah dibandingkan dengan ikatan DNMT3B dengan ligan alaminya (gliserol) yang nilainya sebesar -6.2414. Semakin kecil nilai *docking* antara 2 ikatan, maka semakin kecil pula energi yang diperlukan untuk keduanya berikatan. Sehingga dapat dikatakan bahwa ikatan antara *cis-2-methoxycinnamic acid* dengan protein DNMT3B lebih stabil dibandingkan dengan ikatannya dengan gliserol.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa



minyak atsiri kayu manis diprediksi dapat menghambat perkembangan dan pertumbuhan sel kanker kulit dengan menghambat protein DNMT3B dengan *cis-2-methoxycinnamic acid* sebagai senyawa paling potennya karena memiliki nilai prediksi inhibisi yang baik terhadap protein DNMT3B, nilai kesamaan yang baik dengan obat inhibitor DNMT3B, dan juga interaksi molekuler yang baik dengan DNMT3B sehingga menciptakan ikatan yang stabil antar keduanya.

SARAN

Penelitian yang dilakukan kali ini merupakan penelitian pendahuluan, maka perlu dilakukan konfirmasi menggunakan uji *in vivo* dan *in vitro* mengenai prediksi penghambatan senyawa minyak atsiri kayu manis terhadap protein DNMT3B. Diperlukan juga uji sitotoksik dari senyawa minyak atsiri kayu manis untuk mengetahui kadar toksisitasnya dan dibandingkan dengan obat inhibitor DNMT3B.

DAFTAR PUSTAKA

1. Dewi N, Suksmarini N. Metilasi DNA dalam Perkembangan Kanker Kolorektal. *Intisari Sains Medis* [internet]. 2022;9(2):124-130. Dapat diakses melalui <https://isainsmedis.id/index.php/ism/article/view/176>
2. Gagliardi M, Strazzullo M, Matarazzo MR. DNMT3B Functions: Novel Insights From Human Disease. *Front Cell Dev Biol* [internet]. 2018;6:140. Dapat diakses melalui <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6204409/>
3. Han Y, Zhao H, Jiang Q, Gao H, Wang C. Chemopreventive Mechanism of Polypeptides from *Chlamydomonas reinhardtii* (Pcf) Against UVB-induced Malignant Transformation of HaCaT Cells. *Mutagenesis* [internet]. 2015;30(2):287-296. Dapat diakses melalui <https://academic.oup.com/mutage/article/30/2/287/1357594>
4. Xian D, Lai R, Song J, Xiong X, Zhong J. Emerging Perspective: Role of Increased ROS and Redox Imbalance in Skin Carcinogenesis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* [internet]. 2019;2019:e8127362. Dapat diakses melalui <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2019/8127362/>
5. Martens MC, Seebode C, Lehmann J, Emmert S. Photocarcinogenesis and Skin Cancer Prevention Strategies: An Update. *Anticancer Research* [internet]. 2018;38(2):1153-1158. Dapat diakses melalui <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29374752/>
6. WHO
7. Yu J, Qin B, Moyer AM, Newshean S, Liu T, Qin S, et al. DNA methyltransferase expression in triple-negative breast cancer predicts sensitivity to decitabine. *The Journal of Clinical Investigation* [internet]. 2018;128(6):2376-2388. Dapat diakses melalui <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5983332/>



8. Diesch J, Zwick A, Garz AK, Palau A, Buschbeck M, Götze KS. A clinical-molecular update on azanucleoside-based therapy for the treatment of hematologic cancers. *Clinical Epigenetics* [internet]. 2016;8(1):71. Dapat diakses melalui <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27330573/>
9. Wang YH, Avula B, Nanayakkara NPD, Zhao J, Khan IA. Cassia cinnamon as a source of coumarin in cinnamon-flavored food and food supplements in the United States. *J Agric Food Chem* [internet]. 2013;61(18):4470–4476. Dapat diakses melalui <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf4005862>
10. Zachariah TJ, Leela NK. *Handbook of Herbs and Spices* [internet]. Woodhead Publishing; 2006. Dapat diakses melalui <https://www.sciencedirect.com/book/9780857090393/handbook-of-herbs-and-spices>
11. Rao PV, Gan SH. Cinnamon: A Multifaceted Medicinal Plant. *Evid Based Complement Alternat Med* [internet]. 2014;2014. Dapat diakses melalui <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4003790/>
12. Tan BL, Norhaizan ME, Liew WPP, Sulaiman RH. Antioxidant and Oxidative Stress: A Mutual Interplay in Age-Related Diseases. *Frontiers in Pharmacology* [internet]. 2018;9:1162. Dapat diakses melalui <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30405405/>
13. Chang CT, Chang WL, Hsu JC, Chou ST. Chemical Composition and Tyrosinase Inhibitory Activity of Cinnamomum Cassia Essential Oil. *Botanical Studies* [internet]. 2013;54(10). Dapat diakses melalui <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28510850/>
14. Liang Y, Li Y, Sun A, Liu X. Chemical compound identification and antibacterial activity evaluation of cinnamon extracts obtained by subcritical n-butane and ethanol extraction. *Food Science & Nutrition* [internet]. 2019;7(6):2186–2193. Dapat diakses melalui <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31289667/>
15. Wang R, Wang R, Yang B. Extraction of essential oils from five cinnamon leaves and identification of their volatile compound compositions. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* [internet]. 2009;10(2):289–292. Dapat diakses melalui <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1466856408001240>
16. Chou ST, Chang WL, Chang CT, Hsu SL, Lin YC, Shih Y. Cinnamomum cassia Essential Oil Inhibits α -MSH-Induced Melanin Production and Oxidative Stress in Murine B16 Melanoma Cells. *International Journal of Molecular Sciences* [internet]. 2013;14(9):19186–19201. Dapat diakses melalui <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24051402/>

bimfi.e-journal.id

Organized by:



Supported by:



Index by:

