

Identifikasi Senyawa Aktif Rimpang Kunyit (*Curcuma longa* L.) sebagai Kandidat Antikanker Melalui Studi In Silico terhadap Reseptor Lymphocyte-Specific Protein Tyrosine Kinase

Devita Salsa Maharani¹, Sarah Gustia Redjeki, Evelyn Stepania Emamia, Ananda Putri Aulia Mulyadi, Destawesty Nurviana, Diah Lia Aulifa*, Siti Rafa Amirah, Bilqisti Kanzabila Karim

Departemen Analisis Farmasi dan Kimia Medisinal Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran Jl. Raya Bandung-Sumedang Km. 21, Bandung 45363, Indonesia

*Penulis korespondensi: diah.lia@unpad.ac.id

DOI: <https://doi.org/10.24198/cna.v12.n1.49427>

Abstrak: *Curcuma longa* L. dapat meningkatkan efek agen kemoterapi dalam pengobatan kanker kolorektal. Kanker kolorektal diekspresikan oleh peningkatan Lck pada sel epitel kolon. Perancangan obat dengan aktivitas sebagai inhibitor Lck dapat menjadi strategi penting untuk mengobati kanker kolorektal. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi potensi aktivitas senyawa aktif yang terkandung dalam rimpang kunyit terhadap reseptor Lck melalui studi in silico metode penambatan molekuler sebagai kandidat obat antikanker, khususnya kanker kolorektal. Studi ini dilakukan dengan cara simulasi penambatan molekuler dengan *AutoDock Tools-1.5.6.*, prediksi Lipinski dengan *LigandScout*, dan ADMET dengan *PreADMET*. Senyawa bidesmetoksikurkumin memiliki nilai ΔG sebesar -6,36 kkal/mol, konstanta inhibisi 13.71 μM dan interaksi dengan asam amino GLU317 dan MET319. Nilai HIA (*Human Intestinal Absorption*) dan Caco2 adalah 93,750% dan 21,402 nm/detik dengan nilai PPB (*Plasma Protein Binding*) dan BBB (*Brain-blood Barrier*) adalah 93,826% dan 0,785. Senyawa ini tidak bersifat mutagen namun karsinogen, serta memenuhi aturan Lipinski. Senyawa bidesmetoksikurkumin dapat dijadikan sebagai *lead compound* yang memiliki aktivitas terhadap reseptor Lck sebagai kandidat obat antikanker kolorektal.

Kata kunci: *Curcuma longa* L., kanker kolorektal, Lck, in silico, penambatan molekuler

Abstract: *Curcuma longa* L. can increase the effect of chemotherapeutic agents in the treatment of colorectal cancer. Colorectal cancer is expressed by increased Lck in colonic epithelial cells. Designing drugs with activity as Lck inhibitors could be a strategy for treating colorectal cancer. This study aims to identify the activity potential of the active compounds contained in turmeric rhizome against Lck receptors through in silico studies of molecular docking methods as candidates for anticancer drugs, especially colorectal cancer. This study was carried out by means of molecular docking simulations with *AutoDock Tools-1.5.6.*, Lipinski predictions with *LigandScout*, and ADMET with *PreADMET*. The bidesmethoxycurcumin compound has a ΔG value of -6.36 kcal/mol, an inhibition constant of 13.71 μM and interactions with the amino acids GLU317 and MET319. HIA (*Human Intestinal Absorption*) and Caco2 values were 93.750% and 21.402 nm/sec with PPB (*Plasma Protein Binding*) and BBB (*Brain-blood Barrier*) values were 93.826% and 0.785. These compounds are not mutagens but carcinogens, and fulfill the Lipinski rule. The compound bidesmethoxycurcumin can be used as a lead compound that has activity against the Lck receptor as a colorectal anticancer drug candidate.

Keywords: *Curcuma longa* L., colorectal cancer, Lck, in silico, molecular docking

PENDAHULUAN

Kanker merupakan penyakit tidak menular yang mampu menyerang hampir semua jaringan atau organ tubuh melalui pertumbuhan sel secara tidak terkendali lalu menyebar ke bagian lainnya melalui proses yang disebut metastasis. Keganasan yang berasal dari jaringan usus besar atau rektum disebut kanker kolorektal (Arafah dkk. 2017). Menurut data WHO (2018), kanker ini menjadi kanker yang paling umum

terjadi dan menempati posisi ketiga dunia. Berdasarkan data *Global Cancer Statistics 2020*, sebanyak 35.000 pasien terdiagnosis kanker kolorektal setiap tahun dan 35% diantaranya menyerang penduduk Indonesia pada usia produktif (<40 tahun). Kanker kolorektal menduduki peringkat keempat kanker dengan kasus baru terbanyak di Indonesia dengan angka kematian mencapai 6,7 dari 100 ribu kasus (*Global Cancer Observatory 2021*).

Lck (*lymphocyte-specific protein tyrosine kinase*) merupakan anggota superfamili Src Kinase yang sebagian besar diekspresikan dalam sel limfosit T. Lck terikat dengan koreseptor CD4 dan CD8 pada TCR. Mekanisme aktivasi sel-T oleh Lck dimulai ketika Lck yang teraktivasi memfosforilasi residu tirosin pada *immunoreceptor tyrosine-based activation motifs* (ITAM) kompleks TCR. Residu tirosin ITAM yang terfosforilasi dapat mengaktifkan tirosin kinase Zap70 (*Zeta chain associated protein kinase 70*) yang kemudian memfosforilasi protein adaptor LAT (*linker for activation of T cells*) sehingga mengarah ke aktivasi sel-T (Zhou *et al.* 2021). Lck berperan penting dalam berbagai proses seluler seperti kontrol siklus sel, adhesi sel, motilitas, proliferasi, dan diferensiasi. Lck berperan dalam aktivasi sel T, seperti pensinyalan TCR, perkembangan dan homeostasis sel-T (Elkashawy 2021). Ekspresi p56 Lck kinase telah dilaporkan dalam beberapa sel karsinoma kolon manusia yang berperan dalam kanker kolorektal. Dengan demikian inhibitor Lck dapat menjadi strategi penting untuk mengobati kanker kolorektal (Singh *et al.* 2018).

Doxorubicin adalah bagian dari agen kemoterapi antrasiklin yang diisolasi dari *Streptomyces peucetius* var *caesius*. Obat ini telah digunakan secara luas sejak tahun 1960-an untuk berbagai jenis kanker diantaranya leukimia akut, kanker tulang dan ovarium, kanker payudara, sarkoma jaringan lunak, kanker tulang, kandung kemih, dan tiroid (Arbor & Dubey 2022). Beberapa Src Family Kinases (SFK) termasuk Lck diinduksi oleh doxorubicin dalam sel MCF7 (Mohammed *et al.* 2021).

Kunyit (*Curcuma longa* L.) merupakan tanaman tropis dari famili *Zingiberaceae* yang sering digunakan untuk mengobati berbagai penyakit. Rimpang kunyit memiliki berbagai senyawa kimia yang umumnya terdiri dari 2 kelompok besar yaitu kurkuminoid dan minyak atsiri. Kurkuminoid terdiri dari kurkumin, desmetoksikurkumin, serta bidesmetoksikurkumin yang merupakan senyawa turunan diarilheptanoid. Beberapa penelitian mengungkapkan bahwa senyawa non-kurkuminoid lainnya, seperti *elemene*, *turmeron*, *kurdion*, *karvakrol*, *germakron*, *furanodien*, *kalebin A*, *bisakuron*, *kurlon*, *allanton*, *asam ferulat*, dan *dihidrozingeron*, memiliki potensi aktivitas antikanker (Nair *et al.* 2019).

Eksperimen *in vitro* menunjukkan bahwa kurkumin dapat menghambat Src dan FAK kinase. Kurkumin tidak hanya menghambat fosforilasi FAKs pada jalur Src tetapi juga menghambat aktivitas Src kinase. Kurkumin meningkatkan efek agen kemoterapi dalam pengobatan kanker kolorektal dengan menghambat aktivasi NF- κ B dan jalur pensinyalan Src. Senyawa kurkumin major secara *in vivo* adalah kurkumin, dihidrokurkumin, tetrahidrokurkumin, glukuronida, dan tetrahidrokurkumin (Fabianowska-Majewska *et al.* 2021).

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengidentifikasi aktivitas senyawa aktif dalam tanaman kunyit (*Curcuma longa* L.) terhadap reseptor Lck sebagai kandidat obat kanker kolorektal. Metabolit sekunder yang diujikan adalah metabolit sekunder yang diketahui memiliki aktivitas antikanker dan beberapa diantaranya diketahui memiliki aktivitas terhadap jalur pensinyalan *Src Family Kinase*. Protein target yang dipilih adalah Lck beserta ligan alaminya yaitu *furanopyridine 8* yang merupakan senyawa sintesis sebagai inhibitor Lck yang kuat dan selektif (Martin *et al.* 2007). Senyawa pembanding yang digunakan berupa senyawa obat yang aktif terhadap reseptor Lck yaitu doxorubicin. Metode dilakukan melalui studi *in silico* berupa penambatan molekuler serta dilakukan prediksi ADME dan toksisitas.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Alat yang digunakan yaitu laptop pribadi dengan spesifikasi prosesor Intel(R) Core(™) i7-7600U CPU 2,8GHz; RAM 12,0 GB; tipe sistem 64-bit operating system, x-64 based processor, dan sistem operasi Windows 10. Digunakan perangkat lunak AutoDockTools-1.5.6., Biovia Discovery Studio 2021 Client, ChemDraw Ultra 12.0, Chem3D Pro 12.0, DUD-E, Open Babel, NCBI, Pre-ADMET, Protein Data Bank, SwissADME.

Bahan berupa struktur 3D reseptor target dalam kompleks dengan *furanopyridine 8*, dikristalisasi dari enzim Lck pada *Homo sapiens*/manusia (PDB ID: 2OF2) dengan resolusi 2 Å yang diunduh melalui Protein Data Bank. Ligan untuk kontrol positif yaitu struktur 3D dari *furanopyridine 8* yang dipisahkan dari protein target dengan BIOVIA Discovery Studios 2021 Client. Ligan uji berupa struktur 2D 20 senyawa aktif rimpang kunyit kurkumin (1), bidesmetoksikurkumin (2), kalebin A (3), desmetoksikurkumin (4), dihidrokurkumin (5), tetrahidrokurkumin (6), siklokurkumin (7), bisakumol (8), kurkumenol (9), kurkumenon (10), heksahidrokurkumin (11), kurkumol (12), borneol (13), bisakuron (14), limonen (15), dehidrozingeron (16), oktahidrokurkumin (17), asam ferulat (18), kuersetin (19), dan asam sinamat (20)).

Prediksi Lipinski's Rule of Five

Prediksi sifat fisikokimia senyawa aktif dilakukan di situs SwissADME. Senyawa sebagai kandidat senyawa aktif pada obat harus memenuhi 5 aturan Lipinski, yaitu berat molekul <500 Da, ikatan donor hidrogen <5, ikatan akseptor hidrogen <10, dan log P <5.

Preparasi Reseptor

Protein uji Lck yang berasal dari manusia dengan kode PDB: 2OF2, resolusi 2 Å dalam kompleks dengan *furanopyridine 8* (Martin *et al.* 2007), dikristalisasi dari enzim Lck pada organisme *Homo*

sapiens/manusia diperoleh dari *Protein Data Bank* (RCSB PDB 2023). Preparasi dilakukan dengan penghilangan komponen pada protein yang tidak diperlukan dengan *BIOVIA Discovery Studios 2021 Client* dan disimpan dengan format *file PDB*. Perangkat lunak *AutoDock Tools-1.5.6* digunakan untuk penambahan muatan Kollman hingga diperoleh *file* dengan format *PDBQT*.

Preparasi Ligan

Pada struktur ligan menggunakan perangkat lunak *ChemDraw Ultra 12.0* untuk membentuk 20 senyawa dari rimpang kunyit dan *ChemBio3D Ultra 12.0* untuk memperoleh struktur yang lebih stabil. Struktur 3D geometri dioptimalkan menggunakan MM2 dan AM1, dan memprediksi sifat fisikokimianya (volume, jumlah donor dan akseptor ikatan hidrogen). *File* disimpan sebagai ligan uji ke format *PDB*. Penambahan atom hidrogen dan torsi dengan *AutoDock Tools-1.5.6* dan diperoleh *file* dengan format *PDBQT*.

Validasi Penambatan Molekuler

Program divalidasi dengan melakukan docking ulang ligan alami ke sisi aktif reseptornya (seratus kali iterasi) dengan *Autodock tools 1.5.6*. Ukuran *grid box* (40 x 40 x 40) poin (1 poin: 0,375 Å) dengan koordinat (x,y,z) berturut-turut 27,068 Å; 39,452 Å; dan 84,352 Å. RMSD (*root mean square deviation*) merupakan parameter validitas metode penambatan molekul dan valid jika kurang dari 2,0 Å (Nursamsiar dkk. 2020).

Simulasi Penambatan Molekuler

Simulasi docking molekuler dengan iterasi 100x dilakukan pada 20 senyawa uji dengan menambatkan ke sisi aktif reseptor Lck menggunakan *Autodock tools 1.5.6* dengan format *file *.pdbqt*. Hasil analisis berupa ikatan hidrogen, energi bebas ikatan, dan pola pengikatan residu asam amino dengan sisi aktif reseptor.

Prediksi ADME dan Toksisitas

Menggambarkan struktur senyawa yang di prediksi pada situs <https://preadmet.webservice.bmdrc.org/>. Berkas dapat diunduh dengan format PDF berupa *Human Intestinal Absorption* (HIA), *Caco-2*, *Plasma Protein Binding* (PPB), *Brain-blood Barrier* (BBB), inhibisi protein CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A4, dan toksisitas dilihat dari potensi mutagen dan karsinogen.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Prediksi Lipinski's Rule of Five

Lipinski's Rule of Five merupakan pedoman untuk memprediksi senyawa obat melalui sifat fisikokimia agar dapat diadministrasikan secara oral. Berdasarkan *Lipinski's Rule of Five*, senyawa untuk obat oral memenuhi persyaratan jika tidak melanggar

lebih dari satu kriteria berikut: berat molekul <500 Da, ikatan donor hidrogen <5, ikatan akseptor hidrogen <10, dan log P <5 (Lipinski 2016).

Berat molekul menggambarkan kemampuan senyawa untuk menembus membran. Senyawa dengan berat molekul >500 Da akan sulit menembus membran. Log P berhubungan dengan koefisien kelarutan atau lipofilisitas senyawa untuk prediksi absorpsi (Srivastava R 2021). Nilai Log P yang tinggi menggambarkan senyawa semakin hidrofobik dan toksik karena berada lebih lama pada membran lipid bilayer atau terdistribusi lebih luas sehingga selektivitas terhadap enzim target berkurang. Nilai log P yang terlalu negatif juga tidak baik karena senyawa akan sulit melewati membran lipid bilayer. Jumlah donor dan akseptor ikatan hidrogen dikatakan berbanding lurus dengan energi yang dibutuhkan dalam proses absorpsi (Syahputra dkk. 2014).

Hasil analisis ditunjukkan pada Tabel 1. Berdasarkan hasil tersebut maka 20 senyawa uji memenuhi persyaratan lipinski's rule of five sedangkan senyawa pembanding tidak memenuhi persyaratan karena nilai berat molekul, ikatan donor hidrogen, dan ikatan akseptor hidrogen melebihi persyaratan. Oleh karena itu, 20 senyawa uji tersebut diprediksi dapat diadministrasikan secara oral.

Preparasi Reseptor dan Ligan

Protein uji yang digunakan yaitu protein Lck dengan PDB ID: 2OF2. Kompleks protein tersebut terdiri dari reseptor dan *native ligand 2,3-diphenyl-n-(2-piperazin-1-ylethyl)furo[2,3-b]pyridin-4-amine* yang dikenal dengan *Furanopyridine 8* (Martin et al. 2007). Sebelumnya, protein reseptor dipreparasi dengan ditambahkan atom hidrogen dan *Kollman charges*, sedangkan 20 senyawa uji pada rimpang kunyit didapatkan dari jurnal penelitian. Seluruh senyawa dibuat pemodelan 2D dan 3D untuk simulasi penambatan molekuler.

Validasi Metode

Redocking antara *native ligand* dengan reseptor yang telah dipreparasi dilakukan untuk memvalidasi metode *docking*. Parameter dalam validasi ini merupakan nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*). Besarnya perubahan interaksi antara protein dengan ligan sebelum dan sesudah *docking* berperan untuk mengetahui nilai persimpangan yang ditentukan dari nilai RMSD. Tingkat validitas metode *docking* senyawa uji yaitu nilai RMSD ≤ 2 Å (Sari dkk. 2020). Prosedur *redocking* dilakukan menggunakan *software Biovia Discovery Studio 2021* dan *AutoDock Tools-1.5.6*. Hasil *redocking* diperoleh nilai RMSD terbaik sebesar 0,97 Å (Tabel 2). Hasil ini menunjukkan bahwa konformasi ligan setelah *redocking* hampir sama dengan konformasi ligan awal.

Tabel 1. Hasil prediksi *Lipinski's Rule of Five*

No	Senyawa	Berat Molekul (<500 Da)	Log P (<5)	Ikatan Hidrogen		Keterangan
				Donor (<5)	Akseptor (<10)	
1.	Doxorubicin (Pembanding)	543,52	-2,10	6	12	Tidak Memenuhi
2.	Kurkumin	368,38	1,47	2	6	Memenuhi
3.	Bidesmetoksikurkumin	308,33	2,13	2	4	Memenuhi
4.	Kalebin A	384,38	1,49	2	7	Memenuhi
5.	Desmetoksikurkumin	338,35	1,80	2	5	Memenuhi
6.	Dihidrokurkumin	370,40	1,55	2	6	Memenuhi
7.	Tertrahidrokurkumin	372,41	1,62	2	6	Memenuhi
8.	Siklokurkumin	368,38	1,16	2	6	Memenuhi
9.	Bisakumol	218,33	3,76	1	1	Memenuhi
10.	Kurkumenol	234,33	3,04	1	2	Memenuhi
11.	Curcumenone	234,33	2,54	0	2	Memenuhi
12.	Heksahidrokurkumin	374,43	1,70	3	6	Memenuhi
13.	Kurkumol	136,23	3,15	1	2	Memenuhi
14.	Borneol	154,25	2,45	1	1	Memenuhi
15.	Bisakuron	252,35	1,66	2	3	Memenuhi
16.	Limonen	136,23	3,27	0	0	Memenuhi
17.	Dehidrozingeron	192,21	1,33	1	3	Memenuhi
18.	Oktahidrokurkumin	376,44	1,78	4	6	Memenuhi
19.	Asam ferulat	194,18	1,00	2	4	Memenuhi
20.	Kuersetin	302,24	-0,56	5	7	Memenuhi
21.	Asam sinamat	148,16	1,90	1	2	Memenuhi

Tabel 2. Hasil validasi metode *molecular docking*

Ligan Alami	Binding Energy (kkal/mol)	RMSD (Å)	Ikatan Hidrogen
Furanopyridine 8	-10,12	0,97	Ala368, Asn369, Glu317, Met319

Gambar 1. Gambar tumpang tindih ligan sebelum dan sesudah *redocking*

Penambatan Molekuler

Simulasi penambatan molekuler dilakukan untuk mendapatkan nilai energi bebas ikatan (ΔG) dan konformasi akibat interaksi reseptor-ligan. Parameter-parameter yang diamati pada simulasi penambatan molekuler senyawa uji yaitu nilai ΔG , konstanta inhibisi (K_i), dan jumlah ikatan hidrogen karena memengaruhi kemampuan ligan untuk berikatan dengan reseptor. Banyaknya kesamaan jumlah ikatan hidrogen antara senyawa uji dengan *native ligand* menandakan senyawa uji tersebut mampu menghambat aktivitas dari protein target melalui penggantian posisi *native ligand* (Mardianingrum dkk. 2015). Hasil penambatan molekuler ditunjukkan pada Tabel 3.

Semakin kecil nilai ΔG , maka semakin baik tingkat kestabilan ligan-protein target. Nilai K_i menentukan konsentrasi yang dibutuhkan untuk mendapatkan setengah dari nilai penghambatan maksimum. Oleh karena itu, semakin rendah nilai K_i , maka afinitas ligan terhadap reseptor semakin kuat (Vargas *et al.* 2018). Dari hasil penambatan molekuler, diperoleh senyawa kuersetin memiliki nilai ΔG dan K_i terendah yaitu -7,24 kkal/mol dan 3,89 μM . Akan tetapi, kuersetin hanya memiliki satu ikatan hidrogen dengan residu asam amino yang sama seperti *native ligand* maupun ligan pembanding, yaitu Glu317. Asam amino kunci pada reseptor Lck yaitu Tyr505, Tyr394, Met319, Glu317, dan Asn369 (Elkamhawy *et al.* 2021).

Tabel 3. Simulasi penambatan molekuler

No	Senyawa	Cluster	ΔG (kkal/mol)	Ki (μM)	Interaksi dengan Asam Amino Lain	
					Ikatan Hidrogen	Lain-lain
1.	Furanopyridine 8 (Ligan alami)	1	-10,12	0,018	Ala368, Asn369, Glu317, Met319	Asp382, Leu371, Leu251, Val301, Val259, Ala271
2.	Doxorubin (Pemanding)	1	-8,28	0,106	Asn369, Ala368, Met319	Leu251, Leu371, Ala271, Val259
3.	Kuersetin	1	-7,24	3,89	Leu251, Asp326, Glu317, Thr316	Leu371, Ala271, Val259
4.	Kurkumin	1	-6,87	9,14	Asp382, Met319, Asp326	Tyr318, Ala368, Alkyl Ala381, Leu371
5.	Desmetoksi- kurkumin	1	-6,62	14,02	Thr316, Asn369, Ser323, Ala368	Gly322, Leu371, Ala271, Val301, Lys273, Val259
6.	Bidesmetoksi- kurkumin	1	-6,36	13,71	Ser323, Glu320, Glu317, Met319	Tyr318, Ala271, Leu371, Leu251
7.	Kurkumol	1	-6,23	26,1	-	Leu371, Val259, Tyr318, Ala271, Leu251
8.	Bisakuron	1	-6,14	10,61	Asp326, Ser323, Leu251, Met319	Leu371, Val259, Tyr318, Ala271
9.	<i>Curcumenone</i>	1	-6,13	20,87	Met319, Ser323	Val259, Leu251, Tyr318, Ala271, Val301, Leu371, Met319, Tyr318, Leu371, Val301, Ala271, Val259, Lys273, Leu371, Ala381, Tyr318
10.	Kurkumenol	1	-5,79	55,08	-	Ala271, Leu251, Val259, Lys273
11.	Bisakumol	1	-5,75	52,01	Asp382	Asp326, Glu317, Val259
12.	Kalebin A	1	-5,74	44,69	Thr316, Met319, Leu251	Ala368, Leu251
13.	Dihidrokurkumin	1	-5,55	65,49	Met319, Ser323, Asp326	Leu371, Val301, Ala271, Val259, Leu251
14.	Siklokurkumin	1	-5,47	68,33	Met319, Glu317	Leu251, Asp382, Leu371, Ala381
15.	Tetrahidrokurkumin	1	-5,40	109,51	Met319, Ala368	Leu371, Gly322, Ala381, Val301, Val259, Leu251, Ala271, Tyr318,
16.	Oktahidrokurkumin	1	-5,17	102	Thr316, Asn369, Ala368, Met319	Ala271, Ala381, Val301, Leu371, Leu251, Val259
17.	Heksahidro- kurkumin	1	-5,01	213,8	Met319, Glu317	Gly322, Leu251, Leu371, Ala271, Tyr318
18.	Dehidrozingeron	1	-4,79	279,39	Met319	Val301, Leu371, Ala271, Leu251, Tyr318
19.	Limonen	1	-4,55	447,75	-	Leu251, Leu371, Tyr318, Ala271
20.	Borneol	1	-4,50	484,1	Met319, Glu317	Leu251
21.	Asam sinamat	1	-3,79	1460	Met319, Glu317	
22.	Asam ferulat	1	-3,73	1,78	Met319, Ser323, Asp326	

Tabel 4. Hasil prediksi ADMET

No	Senyawa	Absorpsi		Distribusi		Metabolisme				Toksisitas	
		HIA (%)	Caco -2	PPB (%)	BBB	CYP 2C19	CYP 2C9	CYP 2D6	CYP 3A4	Mutagen	Karsinogen (Mouse/Rat)
1.	<i>Doxorubicin</i> (Pembanding)	28,85	18,22	33,14	0,03	Ya	Ya	Tidak	Ya	Non-mutagen	Negatif/Positif
2.	Kurkumin	94,27	19,70	89,08	0,14	Ya	Ya	Tidak	Ya	Mutagen	Negatif/Positif
3.	Bidesmetoksikurkumin	93,75	21,40	93,83	0,78	Ya	Ya	Tidak	Ya	Non-mutagen	Negatif/Positif
4.	Kalebin A	94,57	22,62	87,59	0,06	Ya	Ya	Tidak	Ya	Non-mutagen	Negatif/Positif
5.	Desmetoksikurkumin	94,03	21,01	89,91	0,23	Ya	Ya	Tidak	Ya	Non-mutagen	Negatif/Positif
6.	Dihidrokurkumin	94,26	20,16	88,45	0,09	Ya	Ya	Tidak	Ya	Non-mutagen	Negatif/Positif
7.	Tetrahidrokurkumin	94,04	20,24	91,46	0,09	Ya	Ya	Tidak	Ya	Non-mutagen	Negatif/Positif
8.	Siklokurkumin	94,14	26,80	90,51	0,09	Ya	Ya	Tidak	Ya	Mutagen	Positif/Negatif
9.	Bisakumol	100,0	53,11	100,0	9,71	Ya	Ya	Tidak	Tidak	Mutagen	Positif/Negatif
10.	Kurkumenol	100,0	24,07	100,0	5,25	Tidak	Ya	Tidak	Ya	Non-mutagen	Positif/Negatif
11.	<i>Curcumenone</i>	99,52	29,45	100,0	0,89	Tidak	Ya	Tidak	Ya	Non-mutagen	Negatif/Positif
12.	Heksahidrokurkumin	90,15	19,26	91,66	0,38	Ya	Ya	Tidak	Ya	Non-mutagen	Negatif/Positif
13.	Kurkumol	97,00	53,11	100,0	4,22	Tidak	Ya	Tidak	Ya	Mutagen	Positif/Negatif
14.	Borneol	100,0	24,23	100,0	3,81	Tidak	Ya	Tidak	Ya	Mutagen	Negatif/Positif
15.	Bisakuron	90,99	24,61	88,34	0,46	Ya	Ya	Tidak	Tidak	Non-mutagen	Negatif/Positif
16.	Limonen	100,0	23,63	100,0	8,28	Ya	Ya	Tidak	Tidak	Mutagen	Negatif/Positif
17.	Dehidrozingeron	94,57	28,70	65,41	0,58	Ya	Ya	Tidak	Tidak	Mutagen	Negatif/Positif
18.	Oktahidrokurkumin	72,43	19,40	91,70	0,25	Ya	Ya	Tidak	Ya	Non-mutagen	Negatif/Positif
19.	Asam ferulat	90,60	21,12	50,41	0,76	Tidak	Ya	Tidak	Tidak	Mutagen	Negatif/Positif
20.	Kuersetin	63,48	3,41	93,23	0,17	Ya	Ya	Tidak	Ya	Mutagen	Negatif/Positif
21.	Asam sinamat	97,84	21,03	60,85	1,86	Tidak	Ya	Tidak	Tidak	Mutagen	Negatif/Negatif

Senyawa uji yang memiliki ikatan hidrogen dengan residu asam amino yang sama seperti *native ligand* dan senyawa pembanding terdapat pada asam sinamat, bidesmetoksikurkumin, bisakuron, borneol, kalebin A, kurkumenon, kurkumin, siklokurkumin, dehidrozingeron, desmetoksikurkumin, asam ferulat, heksahidrokurkumin, oktahidrokurkumin, kuersetin, dihidrokurkumin, dan tetrahidrokurkumin. Namun, senyawa uji dengan ikatan hidrogen terbanyak dengan residu asam amino yang sama seperti *native ligand* maupun senyawa pembanding dan memiliki ΔG paling rendah (-6,36 kkal/mol) yaitu bidesmetoksikurkumin. Bidesmetoksikurkumin memiliki ikatan hidrogen dengan residu asam amino yang sama seperti *native ligand* maupun senyawa pembanding, yaitu pada Glu317 dan Met319. Parameter lain yang diamati yaitu K_i , yang berbanding lurus dengan ΔG . Bidesmetoksikurkumin memiliki nilai K_i sebesar 13,71 μM . Oleh karena itu, senyawa terbaik dari ke-20 senyawa uji adalah bidesmetoksikurkumin.

Hasil tersebut didukung oleh studi antikanker bidesmetoksikurkumin secara *in vitro* dan *in vivo*. Analisis molekuler menunjukkan perubahan signifikan oleh bidesmetoksikurkumin, termasuk menurunkan regulasi protein utama terkait dengan metastasis kanker, termasuk MMP-2 (*Matrix metalloproteinase-2*), MMP-9, RAS, dan β -catenin. Senyawa tersebut secara signifikan menghambat mobilitas sel dan mengurangi migrasi dan invasi sel kanker secara *in vitro* (Aminnezhad *et al.* 2023). Selain itu, bidesmetoksikurkumin yang diujikan pada nude mice secara *in vivo* pada dosis 100 mg/kg/hari selama 3 minggu dapat menghambat pertumbuhan tumor dan mengurangi pertumbuhan sel kanker dan aktivitas dalam tumor (Ramezani *et al.* 2018).

Prediksi ADME dan Toksisitas

Salah satu tahapan yang sangat penting dalam pengembangan obat adalah analisis profil farmakokinetik. Profil farmakokinetik tersebut meliputi absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi dan toksisitas. Hasil prediksi ADMET dapat dilihat pada Tabel 4.

Parameter absorpsi yang digunakan adalah nilai HIA dan Caco-2. Nilai HIA memprediksi jumlah senyawa yang terabsorpsi di usus. Nilai HIA untuk senyawa yang diserap baik adalah 70-100%, HIA 20-70% untuk senyawa yang diserap cukup baik, dan HIA 0-20% untuk senyawa yang diserap buruk. Permeabilitas obat yang rendah ditandai nilai PCaco-2 <4, permeabilitas sedang ditandai nilai PCaco-2 4-70, sedangkan permeabilitas tinggi ditandai nilai PCaco2 >70 (Rahmawaty dkk. 2022). Bidesmetoksikurkumin memiliki HIA yang lebih tinggi (93,75%) dari *doxorubicin* (28,85%) sehingga dapat diserap lebih baik di usus. Bidesmetoksikurkumin memiliki Caco-2 yang lebih tinggi (21,40%) dari *doxorubicin* (18,22%) sehingga permeabilitasnya lebih baik.

Parameter distribusi yang digunakan berupa nilai PPB (*Plasma Protein Binding*) dan BBB (*Brain-blood Barrier*). Nilai PPB dapat mengetahui jumlah obat yang terikat pada plasma protein, memprediksi kemampuan obat berdifusi melalui membran dan berinteraksi dengan target, sehingga menghasilkan efek farmakologis. Nilai PPB >90% menunjukkan ikatan protein yang kuat, sedangkan nilai PPB <90% menunjukkan ikatan protein yang lemah (Rahmawaty dkk. 2022). Bidesmetoksikurkumin memiliki nilai PPB >90, sehingga perlu *onset of action* yang lebih lama untuk menghasilkan efek farmakologisnya. Nilai BBB digunakan untuk memprediksi kemampuan obat melewati sawar darah-otak dan masuk ke otak. Parameter BBB berhubungan dengan efikasi, efek samping, toksisitas, dan efek farmakologis dalam otak. Senyawa dengan nilai BBB < 0,1 memiliki daya penetrasi rendah, nilai BBB 0,1-2 memiliki daya penetrasi sedang, sedangkan nilai BBB > 2 memiliki daya penetrasi tinggi (Az-Zahra *et al.* 2022). Bidesmetoksikurkumin memiliki kemampuan penetrasi sedang (0,78). Obat antikanker kolon tidak didesain bekerja dalam otak, sehingga tidak perlu melewati sawar darah-otak.

Parameter metabolisme dan ekskresi yang digunakan yaitu aktivitas inhibisi pada CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, dan CYP3A4. Obat pembanding doxorubicin memiliki aktivitas inhibisi pada CYP2C19, CYP2C9, dan CYP3A4. Bidesmetoksikurkumin juga memiliki aktivitas inhibisi yang mirip dengan *doxorubicin* tersebut.

Parameter toksisitas diuji dengan sifat mutagenik dan karsinogenik. *Ames test* digunakan dalam menilai potensi mutagenik suatu senyawa dalam menginduksi mutasi DNA yang berpengaruh pada struktur DNA sel bakteri. Di samping itu, sifat karsinogenik diuji dengan pengujian *rodent carcinogenicity*. Hasil positif jika termasuk genotoksik dan terdapat aktivitas karsinogenik (Az-Zahra *et al.* 2022). Senyawa doxorubicin tidak mutagen dan tidak karsinogen, sedangkan bidesmetoksikurkumin tidak mutagen dan karsinogen.

KESIMPULAN

Senyawa bidesmetoksikurkumin memiliki potensi paling baik sebagai kandidat obat antikanker kolorektal karena memiliki beberapa interaksi asam amino yang sama dengan ligan alami yaitu asam amino kunci Glu317 dan Met319. Bidesmetoksikurkumin memiliki nilai energi bebas Gibbs (ΔG) yang cukup rendah (-6,36 kkal/mol) dan konstanta inhibisi (K_i) yang baik (13,71 μM) serta memenuhi aturan Lipinski RO5 sehingga dapat diadministrasikan oral. Beberapa parameter prediksi ADME dapat dikatakan cukup baik. Profil absorpsi bidesmetoksikurkumin ditunjukkan dengan nilai HIA (93,750%) dan Caco-2 (21,402 nm/detik) yang lebih tinggi dibandingkan *Doxorubicin*, menunjukkan penyerapan dalam usus dan permeabilitas yang baik. Bidesmetoksikurkumin diprediksi memerlukan *onset*

of action lebih lama untuk menghasilkan efek farmakologisnya dengan nilai distribusi PBB >90% dan kemampuan penetrasi sawar darah-otak yang sedang (0,785). Profil metabolisme dan ekskresi dilihat dari aktivitas inhibisi bidesmetoksikurkumin yang sama dengan *Doxorubicin*. Prediksi toksisitas dari bidesmetoksikurkumin menunjukkan tidak mutagenik. Namun, senyawa ini bersifat karsinogenik sehingga perlu dilakukan modifikasi struktur kimia untuk mengurangi potensi karsinogenik serta evaluasi potensi dan risiko karsinogenik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Tuhan Yang Maha Esa. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah berperan dalam penelitian, dosen pengampu, asisten dosen, serta teman-teman sehingga penelitian ini dapat diselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Aminnezhad, S., Maghsoudloo, M. & Aliakbari, R.B.S. (2023). Anticancer, antimicrobial, anti-inflammatory, and neuroprotective effects of bisdemethoxycurcumin: Micro and nano facets. *Micro Nano Bio Aspects*. **2(4)**: 17-24.
- Arafah, A.B.R. & Notobroto, H.B. (2017). Faktor yang berhubungan dengan perilaku ibu rumah tangga melakukan pemeriksaan payudara sendiri (SADARI). *The Indonesian Journal of Public Health*. **12(2)**: 143-153.
- Arbor, J.K. & Dubey R. (2022). Doxorubicin. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
- Az-Zahra, F., Afidika, J., Diamantha, S.D.A., Rahmani, A.E., Fatimah, S. & Aulifa, D.L. (2022). In silico study of betel leaves compound (*Piper betle* L.) as acetylcholinesterase enzyme inhibitor in alzheimer disease. *Indonesian Journal of Biological Pharmacy*. **2(2)**: 44-58.
- Elkamhawy, A., Ali, E. M. & Lee, K. (2021). New horizons in drug discovery of lymphocyte-specific protein tyrosine kinase (Lck) inhibitors: A decade review (2011–2021) focussing on structure–activity relationship (SAR) and docking insights. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*. **36(1)**: 1572-1600.
- Global Cancer Observatory. (2021). Indonesia. International Agency for Research on Cancer, France.
- Lipinski, C.A. (2016). Rule of five in 2015 and beyond: Target and ligand structural limitations, ligand chemistry structure and drug discovery project decisions. *Advanced Drug Delivery Reviews*. **101**: 34-41.
- Fabianowska-Majewska, K., Kaufman-Szymczyk, A., Szymanska-Kolba, A., Jakubik, J., Majewski, G. & Lubecka, K. (2021). Curcumin from turmeric rhizome: A potential modulator of DNA methylation machinery in breast cancer inhibition. *Nutrients*. **13(2)**: 332.
- Mardianingrum, R., Herlina, T. & Supratman, U. (2015). Isolasi dan molecular docking senyawa 6,7-dihidro-17-hidroksierisotrin dari daun dadap belendung (*Erythrina poeppigiana*) terhadap aktivitas sitotoksik antikanker payudara MCF-7. *Jurnal Chimica et Natura Acta*. **3(3)**: 90-93.
- Martin, M.W., Newcomb, J., Nunes, J.J., Bemis, J.E., McGowan, D. C., White, R. D., et al. (2007). Discovery of novel 2,3-diarylfuro[2,3-b]pyridin-4-amines as potent and selective inhibitors of lck: synthesis, SAR, and pharmacokinetic properties. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. **17(8)**: 2299–2304.
- Mohammed, S., Shamseddine, A.A., Newcomb, B., Chavez, R.S., Panzner, T.D., Lee, A.H., Canals, D., Okeoma, C.M., Clarke, C.J & Hannun, Y.A. (2021). Sublethal doxorubicin promotes migration and invasion of breast cancer cells: role of Src family non-receptor tyrosine kinases. *Breast Cancer Research*. **23(1)**: 1-20.
- Nair, A., Amalraj, A., Jacob, J., Kunnumakkara, A.B. & Gopi, S. (2019). Non-Curcuminoids from turmeric and their potential in cancer therapy and anticancer drug delivery formulations. *Biomolecules*. **9(13)**: 1-36.
- Nursamsiar, N., Mangande, M.M., Awaluddin, A., Nur, S. & Asnawi, A. (2020). In silico study of aglycon curculigoside A and its derivatives as α -amilase inhibitors. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*. **7(1)**: 29-37.
- Rahmawaty, A., Cahyani, F.R., Safitri, N., Sitepu, A.A.N.C., Hapitria, E.N. & Megantara, S. (2022). Uji in silico kandungan senyawa tanaman anggur (*Vitis vinifera* L.) untuk kandidat obat anti hiperlipidemia. *Majalah Farmasi dan Farmakologi*. **26(2)**: 57-62.
- Ramezani, M., Hatamipour, M. & Sahebkar, A. (2018). Promising anti-tumor properties of bisdemethoxycurcumin: A naturally occurring curcumin analogue. *Journal of Cellular Physiology*. **233(2)**: 880-887.
- RCSB PDB. 2023. 2OF2. Url: <https://www.rcsb.org/structure/2OF2>. Diakses tanggal 25 Maret 2023.
- Sari, I.W., Junaidin, J. & Pratiwi, D. (2020). Studi molecular docking senyawa flavonoid herba kumis kucing (*Orthosiphon Stamineus* B.) pada reseptor α -glukosidase sebagai antidiabetes tipe 2. *Jurnal Farmagazine*. **7(2)**: 54-60.
- Singh, P.K., Kashyap, A. & Silakari, O. (2018). Exploration of the therapeutic aspects of Lck: A kinase target in inflammatory mediated pathological conditions. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. **108**: 1565-1571.
- Srivastava, R. (2021). Theoretical studies on the molecular properties, toxicity, and biological

- efficacy of 21 new chemical entities. *ACS Omega*. **6(38)**: 24891-24901.
- Syahputra, G., Ambarsari, L. & Sumaryada, T. (2014). Simulasi docking kurkumin enol, bisdemetoksikurkumin dan analognya sebagai inhibitor enzim 12-lipoksigenase. *Jurnal Biofisika*. **10(1)**: 55-67.
- Vargas, J.A.R., Lopez, A.G., Piñol, M.C. & Froeyen, M. (2018). Molecular docking study on the interaction between 2-substituted-4,5-difuryl imidazoles with different protein target for antileishmanial activity. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. **8(3)**: 014-022.
- Zhou, J., Xiao, Z., Zhan, Y., Qu, X., Mou, S., Deng, C., Zhang, T., Lan, X., Huang, S. & Liu, Y. (2021). Identification and characterization of the amphioxus Lck and its associated tyrosine phosphorylation-dependent inhibitory LRR receptor. *Frontiers in Immunology*. **12**: 1-13.
-