

POTENSI SENYAWA VITEXIN PADA KOMBUCHA BUNGA KECOMBRANG (*ETLINGERA ELATIOR*) SEBAGAI KANDIDAT OBAT ANTIKANKER KOLON YANG DIPREDIKSI BERDASARKAN ANALISIS BIOINFORMATIKA

Fitri Rahmi Fadhilah¹ · Firman Rezaldi² · Suyarta Efrida Pakpahan³ ·
Salsabila Khaerunisa Putri⁴

^{1,3,4} DIV Teknologi Laboratorium Medik, Fakultas Kesehatan, Institut Kesehatan Rajawali
Bandung, Jawa Barat, Indonesia

² DIV Teknologi Laboratorium Medik, STIKes Tujuh Belas, Karanganyar, Indonesia
e-Mail : ffitriarahmi@gmail.com
No Tlp WA : 089678876688

Abstract

Cancer is a health threat that needs to be treated with chemotherapy therapy, namely 5-Fluorouracil (5FU) chemotherapy. This encourages people to switch treatment to traditional medicine. Kombucha is one of the drinks resulting from the fermentation of tea and sugar solutions as an immunity enhancer from kecombrang flowers (*Etligeria elatior*). The purpose of this study was to determine the existence of ligand binding of vitexin compounds with Chk1, Cyclin and Apoptosis Regulator Bcl-2 receptors through *in silico* analysis and to obtain the RMSD (Root Mean Square Deviation) value of a good Protein ligand conformation. Descriptive research and this study used hardware with Intel (R) Core (TM) i7 2670QM @ 2.20GHz 2.20 GHz RAM 8.00 GB specifications. Results showed vitexin binds to Chk1, Cyclin A, and Apoptosis Regulator Bcl-2 enzymes. $\Delta G_{binding}$ value on Chk1 -5.75 kcal/mol, forming hydrogen bonds ARG A:74 & HIS A:73. On Cyclin A -6.19 kcal/mol, forms hydrogen bond TYR B:271. Bcl-2 +0.89 kcal/mol, no bond. Vitexin is predicted to potentially inhibit Checkpoint Kinase 1 (Chk1) & Cyclin A enzymes in suppressing cancer cell growth. But for Apoptosis Regulator enzyme Bcl-2, it can be predicted that it has no potential in inhibiting cancer cell growth.

Keywords: Kombucha, Vitexin, Torch Ginger, *In Silico*, Colon Cancer

Abstrak

Kanker adalah ancaman kesehatan yang perlu diobati dengan terapi kemoterapi yaitu kemoterapi 5-Fluorouracil (5FU). Hal ini mendorong masyarakat untuk beralih pengobatan ke obat tradisional. Kombucha salah satu minuman hasil fermentasi larutan teh dan gula sebagai peningkat imunitas dari bunga kecombrang (*Etligeria elatior*). Tujuan penelitian ini adalah mengetahui adanya ikatan ligan senyawa vitexin dengan reseptor Chk1, Cyclin dan Apoptosis Regulator Bcl-2 melalui analisis *in silico* dan untuk mendapatkan nilai RMSD (Root Mean Square Deviation) dari konformasi ligan Protein yang baik. Penelitian deskriptif dan penelitian ini menggunakan perangkat keras dengan spesifikasi Intel (R) Core (TM) i7 2670QM @ 2.20GHz 2.20 GHz RAM 8,00 GB. Hasil menunjukkan vitexin berikatan dengan enzim Chk1, Cyclin A, dan Apoptosis Regulator Bcl-2. Nilai $\Delta G_{binding}$ pada Chk1 -5.75 kcal/mol, membentuk ikatan hidrogen ARG A:74 & HIS A:73. Pada Cyclin A -6.19 kcal/mol, membentuk ikatan hidrogen TYR B:271. Bcl-2 +0.89 kcal/mol, tanpa ikatan. Vitexin diprediksi berpotensi menghambat enzim Checkpoint Kinase 1 (Chk1) & Cyclin A dalam menekan pertumbuhan sel kanker. Tetapi untuk enzim Apoptosis Regulator Bcl-2 dapat diprediksi tidak berpotensi dalam menghambat pertumbuhan sel kanker.

Kata Kunci: Kombucha, Vitexin, Bunga Kecombrang, *In Silico*, Kanker Kolon

PENDAHULUAN

Kombucha merupakan suatu produk minuman hasil fermentasi larutan teh dan gula dengan menambahkan starter mikrobial kombucha yaitu *Acetobacter xylinum* dan beberapa jenis khamir atau jamur kombucha. Waktu fermentasi kombucha berkisar antara 8-12 hari pada suhu 18-20°C, sedangkan pada suhu yang lebih tinggi fermentasi berlangsung lebih singkat. Pada umumnya, daerah beriklim tinggi (22-26°C) melakukan fermentasi kombucha selama 4-6 hari (Kumar Vikas, 2016).

Adanya khasiat kombucha sebagai minuman peningkat imunitas sangat cocok untuk dikembangkan bahkan dikonsumsi di era pandemic COVID-19 dimana pasien COVID-19 secara internasional per tanggal 6 April 2021 mencapai 131.020.967 orang dan mengalami peningkatan sebesar 1.534.225 dengan rincian peningkatan jumlah pasien sebanyak 6.731 orang (Firman Rezaldi, Opik Taupiqurrohman, M Fariz Fadillah, Agus Rochmat, Aji Humaedi, 2021). Khasiat dasar kombucha sebagai antikanker, antioksidan, dan antibakteri membuka peluang yang tinggi pula untuk dikembangkan sebagai bahan baku kosmetik yang halal dalam perspektif bioteknologi (Rezaldi, F., Maruf, A., Pertiwi, F. D., Fatonah, N. S., Ningtias, R. Y., Fadillah, M. F., Sasmita, H., & Somantri, 2021), (Laureys, David, Scott J. Britton, 2020). Kandungan asam organik pada kombucha berupa asam asetat berperan sebagai antibakteri.

Dalam penelitian ini digunakan bahan dasar kombucha dari bunga kecombrang (*Etilingea elatior*). Hal ini dikarenakan bunga kecombrang memiliki kandungan senyawa antioksidan alami seperti flavonoid yang baik untuk kesehatan. Kandungan senyawa dalam bunga kecombrang antara lain, flavonoid, terpenoid, saponin dan tannin (Lachumy SJT., Sasidharan S., 2010). Flavonoid dalam bunga kecombrang diidentifikasi sebagai kaempferol dan kuersetin. Diarylheptanoids 1-3 yang diisolasi dari bunga menunjukkan aktivitas antioksidan yang kuat. (Wieslaw Wiczowski, Dorota Szawara-Nowak, 2015)

Aktivitas tersebut diduga serupa seperti dengan bunga telang yang memiliki aktivitas berupa antibakteri baik bakteri gram positif dan negatif (Rezaldi, Firman, Retna Yulrosly Ningtyas & Ma'ruf, 2021). Selanjutnya, kombucha bunga telang juga memiliki aktivitas antioksidan dan antimikroba (Pertiwi, F. D., Rezaldi, F., & Puspitasari, 2022). Selain itu, Taupiqurrohman dkk., (2022) menyatakan bahwa

kombucha bunga telang telah memiliki antikanker (Taupiqurrohman, O., Rezaldi, F., Fadillah, M. F., Amalia, D., & Suryani, 2022).

Kecombrang telah dilaporkan memiliki aktivitas farmakologi diantaranya sebagai antikanker, antiproliferatif, dan sitotoksik. Bunga kecombrang mengandung sejumlah besar fenolik dan flavonoid seperti asam galat, asam kafeat, kuersetin, luteolin, dan myricetin, yang dapat menghambat pertumbuhan sel kanker payudara (Ghasemzadeh A., Jaafar HZE., 2015). Vitexin merupakan sebuah senyawa yang tergolong pada flavonoid. Senyawa ini banyak terkandung pada kombucha. Hasil penelitian Kurniawati, dkk., (2023) menemukan bahwa kombucha bunga telang memiliki anti IgE. (Kurniawati, N., Saputri, I. S. P. A., & Rezaldi, 2023)

Kanker merupakan penyakit yang menjadi ancaman terhadap kesehatan manusia. Menurut Smith et al, (2019), kanker adalah suatu penyakit yang ditandai dengan pertumbuhan dan penyebaran sel-sel abnormal yang tidak terkendali, jika hal ini terus terjadi dan tidak terkontrol maka akan menyebabkan kematian. (Smith, R. A., Andrews, K. S., Brooks, D., Fedewa, S. A., Manassaram-Baptiste, D., Saslow, D., & Wender, 2019) Pertumbuhan dan penyebaran sel-sel abnormal yang terjadi pada sel penyusun kolon hingga ke bagian rektum disebut dengan kanker kolorektal (Chen, 2015), (Basir, 2014) .

Terapi perawatan kanker kolorektal meliputi radioterapi, kemoterapi dan pembedahan. Salah satu obat kemoterapi adalah 5-Fluorouracil(5-FU), obat ini digunakan sebagai kontrol positif atau ligan standar pembanding yang dapat membantu meningkatkan kelangsungan hidup pasien dengan berbagai jenis kanker. (Basir, 2014)

Pada penelitian mengenai senyawa vitexin pada kombucha bunga telang yang telah dilakukan oleh Kurniawati, dkk., (2023) bahwa bunga telang berperan penting sebagai sumber antialergi melalui prediksi yang dianalisis secara *in silico* (Kurniawati, N., Saputri, I. S. P. A., & Rezaldi, 2023).

Uraian latar belakang mengenai hasil penelitian yang mendukung dalam penelitian ini membuat penulis tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul Potensi Senyawa Vitexin Pada Kombucha Bunga Kecombang (*Etilingera Elatior*) Sebagai Kandidat Obat Antikanker Kolon Yang Diprediksi Berdasarkan Analisis Bioinformatika.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Populasi penelitian ini adalah Senyawa Vitexin dan Sampel penelitian ini adalah Senyawa Vitexin yang terkandung pada Kombucha Bunga Kecombrang.

Metode

Molekular Docking

Pengunduhan protein target dilakukan melalui webservice Protein Bank Data (PDB) yang dapat diakses di <https://www.rcsb.org/>. Struktur makromolekul yang digunakan adalah Chk1 (PDB ID:2R0U), CyclinA (PDB ID:6GUE) dan Apoptosis Regulator Bcl-2 (PDB ID:4LXD), sedangkan preparasi makromolekul dilakukan dengan bantuan software AutodockTools. Langkah pertama yaitu melakukan penghilangan kadar air yang ada pada molekul, kemudian memisahkan ligan dari protein, selanjutnya menambatkan hydrogen dan muatan parsial. Struktur makromolekul yang sudah didapatkan disimpan dalam bentuk PDBQT.

Preparasi Ligan Bunga Kecombrang

Mencari struktur 2D dari Vitexin kombucha bunga kecombrang sebagai ligan uji, melalui webservice PubChem yang dapat diakses <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>. Optimasi geometri struktur 3D dari ligan uji dengan software Avogadro, hasilnya disimpan dalam bentuk PDB yang akan digunakan untuk penambatan molekuler dengan format MOL untuk prediksi farmakokinetik dan toksisitas.

Validasi Penambatan Molekular

Proses validasi dilakukan dengan penambatan ulang ligan native ke protein targetnya, dimulai dengan menentukan gridbox ligan terhadap makromolekul. Selanjutnya proses analisa dengan software AutodockTools, kemudian dilihat nilai RMSDnya. Parameter yang digunakan dalam validasi penambatan molekular adalah nilai $RMSD \leq 2,5 \text{ \AA}$.

Analisis Penambatan Molekular

Proses penambatan dari 1 ligan uji terhadap 3 protein target dilakukan untuk menentukan posisi dan ukuran gridbox dari masing-masing protein target dengan software AutodockTools. Parameter yang akan diamati dalam proses docking (penambatan molekular) yaitu nilai energi ikatan ($\Delta G_{\text{binding}}$). Semakin kecil nilai

energi ikatan antara ligan dan reseptor maka semakin tinggi afinitasnya, begitu sebaliknya jika semakin besar nilai ikatan antara ligan dan reseptor maka semakin rendah pula afinitasnya.

Visualisasi Senyawa Hasil Penambatan Molekular

Visualisasi senyawa hasil penambatan molekular dilakukan dengan software Discovery Studio Visualizer. Secara visual dilakukan dengan membandingkan residu asam amino dari ligan uji dengan residu asam amino dari makromolekul yang saling berinteraksi dan memiliki kemiripan.

HASIL

Hasil pengujian terhadap senyawa flavonoid bunga dalam bunga kecombrang yang didapatkan melalui webserver Pubchem yang digunakan untuk mengetahui prediksi afinitas terhadap 3 protein target antikanker kolon secara *in silico* dengan metode penambatan molekular.

a. Pengunduhan dan Preparasi Makromolekul Kanker Kolon

Pengunduhan protein target dilakukan melalui webserver Protein Bank Data (PDB) yang dapat diakses di <https://www.rcsb.org/>. Terdapat kriteria pemilihan protein yaitu resolusi $<2,5\text{\AA}$, karena semakin kecil nilai RMSD maka akan semakin tinggi ketelitiannya dengan hasil kristalisasi menggunakan metode sinar-X dan mempunyai nilai mutasi nol serta berasal dari spesies yang relevan. Struktur makromolekul yang digunakan adalah *Checkpoint Kinase 1 (Chk1)* (PDB ID:2R0U) dengan resolusi $1,90\text{\AA}$, *CyclinA* (PDB ID:6GUE) dengan resolusi $1,99\text{\AA}$ dan *Apoptosis Regulator Bcl-2* (PDB ID:4LXD) dengan resolusi $1,90\text{\AA}$, sedangkan preparasi makromolekul dilakukan dengan bantuan software AutodockTools. Ketiga protein berasal dari metode difraksi sinar-X, non mutan serta berasal dari spesies yang relevan yaitu *homo sapiens* (Pratama JP, Kurniawati N, 2023). Adapun makromolekul yang memenuhi kriteria sebagai protein target dapat dilihat pada tabel 1 berikut:

Tabel 1. Hasil Makromolekul Target Terpilih

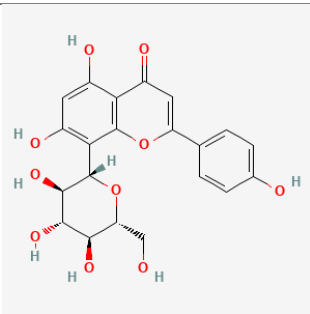
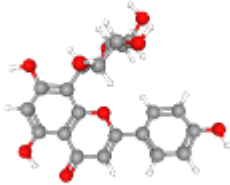
Makromolekul	PDB ID	Resolusi (\AA)	Metode Distruksi	Spesies	Chains
<i>Checkpoint Kinase 1</i>	2R0U	1.90	X-ray	Homo Sapien	A

Makromolekul	PDB ID	Resolusi (Å)	Metode Distruksi	Spesies	Chains
<i>CyclinA</i>	6GUE	1.99	X-ray	Homo Sapien	A
<i>Apoptosis Regulator Bcl-2</i>	4LXD	1.90	Xray	Homo Sapien	A

b. Preparasi Ligan Vitexin Kombucha Bunga Kecombrang

Terdapat 1 senyawa flavonoid aktif yang digunakan dari bunga kecombrang sebagai ligan uji yang diawali dengan mencari struktur 2D dari ligan uji tersebut menggunakan *webservice Pubchem*. Selanjutnya pengoptimasi geometri struktur 3D ligan uji menggunakan software Avogadro, optimasi geometri bertujuan untuk meminimalisasi energi agar struktur yang diperoleh paling stabil (Putri, Susanti and Laksmiani, 2019). Hasil preparasi ligan uji berupa struktur 3D disimpan dalam format PDB yang digunakan sebagai uji docking. Hasil preparasi ligan uji dapat dilihat pada tabel 2 berikut:

Tabel 2. Hasil Pengunduhan Senyawa 2D dengan Webservice Pubchem dan Optimasi Geometri Struktur 3D dengan Software Avogadro

No.	Ligan Uji	Struktur 2D	Struktur 3D
1.	Vitexin		

c. Validasi Metode Penambatan Molekuler

Validasi metode penambatan makromolekul dilakukan pada setiap protein target yang digunakan yaitu *Checkpoint Kinase 1 (Chk1)* (PDB ID:2ROU), *CyclinA* (PDB ID:6GUE) dan *Apoptosis Regulator Bcl-2* (PDB ID:4LXD). Proses *docking molekuler* dilakukan dengan menggunakan aplikasi *Autodock Vina* dan *MGL Tools (Autodock Tools)*. Hasil re-docking molekuler kombucha bunga kecombrang dapat dilihat pada tabel 3 berikut:

Tabel 3. Hasil Re-docking dan Nilai RMSD dengan ligan natif

Protein Target	Kluster	Konformasi	Energi Binding	Reference RMSD
2ROU	1	2	-10.81 kcal/mol	0.944 Å
6GUE	1	1	-10.27 kcal/mol	0.902 Å
4LXD	1	10	-12.34 kcal/mol	1.289 Å

Pada tahapan ini parameter yang digunakan meliputi nilai RMSD (Å) dimana hasil docking dikatakan baik jika memiliki nilai RMSD yang $< 2\text{Å}$ (Rena SR, Nurhidayah, 2022). Hasil validasi metode penambatan makromolekul diperoleh hasil makromolekul target dengan nilai RMSD $\leq 2\text{Å}$ yaitu *Checkpoint Kinase 1 (Chk1)* (PDB ID:2ROU) sebesar 0.944 Å, *Cyclin A* (PDB ID:6GUE) sebesar 0.902 Å, dan *Apoptosis Regulator Bcl-2* (PDB ID:4LXD) sebesar 1.289 Å.

d. Analisa Hasil Penambatan Molekuler

Hasil penambatan dapat diamati menggunakan Biovia Discovery Studio Visualizer dengan membandingkan antara interaksi ligan internal dengan senyawa inklusi (Rena SR, Nurhidayah, 2022). Ligan uji yaitu senyawa vitexin yang telah dioptimasi dan diprotonisasi selanjutnya di tambatkan dengan protein dari reseptor *Checkpoint Kinase 1 (Chk1)*, *Cyclin A*, dan *Apoptosis Regulator Bcl-2* yang telah dipreparasi menggunakan metode yang sama seperti validasi metode docking reseptor.

Tabel 4. Hasil Penambatan Molekuler pada *Checkpoint Kinase 1 (Chk1)*

	Cluster Rank	Lowest Binding Energy	Run	Mean Binding Energy	Num In Cluster
2ROU	1	-5.75	90	-5.52	51
	2	-5.69	88	-5.59	5
	3	-5.38	27	-5.32	44

Pada tabel 4 memperlihatkan nilai ΔG hasil simulasi *docking* vitexin dengan menggunakan reseptor *Checkpoint Kinase 1*. Nilai ΔG yang digunakan adalah nilai yang kecil, semakin kecil nilai ΔG maka semakin

stabil dan semakin tinggi nilai afinitasnya. Berdasarkan nilai (ΔG) dari hasil binding affinity senyawa vitexin dan binding affinity native ligan pada tabel 4.3 diperoleh konformasi ligan yang bernilai negative dari keduanya, nilai dari binding energi ligan uji lebih besar yaitu (-5.75 kcal/mol) dibandingkan dengan binding energy dari native ligan (-10.81 kcal/mol) hal ini menunjukkan bahwa ikatan dari ligan uji lebih lemah dibandingkan dengan ikatan native ligan terhadap protein 2R0U. meskipun ikatan dari ligan uji lemah akan tetapi ligan uji dapat berikatan dengan reseptor dari 2R0U.

Tabel 5. Hasil Penambatan Molekuler pada *Cyclin A*

	Cluster Rank	Lowest Binding Energy	Run	Mean Binding Energy	Num In Cluster
6GUE	1	-6.19	63	-5.52	31
	2	-5.72	57	-5.50	42
	3	-5.41	42	-5.26	4
	4	-5.32	50	-5.17	13
	5	-4.96	14	-4.92	3
	6	-4.89	17	-4.86	7

Pada tabel 5 memperlihatkan nilai ΔG hasil simulasi *docking* vitexin dengan menggunakan reseptor *Cyclin A*. Berdasarkan nilai (ΔG) dari hasil binding affinity senyawa vitexin dan binding affinity native ligan pada tabel 3 diperoleh konformasi ligan yang bernilai negative dari keduanya, nilai dari binding energi ligan uji lebih besar yaitu (-6.19 kcal/mol) dibandingkan dengan binding energy dari native ligan (-10.27 kcal/mol) sama halnya seperti reseptor 2R0U, ikatan dari ligan uji lebih lemah dibandingkan dengan ikatan native ligan terhadap protein 6GUE. meskipun ikatan dari ligan uji lemah akan tetapi ligan uji dapat berikatan dengan reseptor dari 6GUE.

Tabel 6. Hasil Penambatan Molekuler pada *Apoptosis Regulator Bcl-2*

	Cluster Rank	Lowest Binding Energy	Run	Mean Binding Energy	Num In Cluster
4LXD	1	+0.89	2	+0.89	57
	2	+0.89	99	+0.89	10
	3	+0.89	26	+0.89	29
	4	+0.89	81	+0.89	1
	5	+0.89	88	+0.89	2
	6	+0.89	25	+0.89	1

Untuk reseptor 4LXD dapat dilihat pada tabel 4.6 diperoleh nilai binding affinity senyawa vitexin dan tabel 4.3 nilai binding affinity native ligan, konformasi ligan keduanya berbeda yaitu pada natif ligan bernilai negative dan pada senyawa vitexin bernilai positif. Nilai dari binding energi ligan uji jauh lebih besar yaitu (+0.89 kcal/mol) dibandingkan dengan binding energi dari native ligan (-12.34 kcal/mol) hal ini juga menunjukkan bahwa ikatan ligan uji jauh lebih lemah atau bisa dikatakan hampir tidak adanya ikatan dibandingkan dengan ikatan native ligan terhadap protein 4LXD. Karena ikatannya yang sangat lemah, ligan uji tidak dapat berikatan dengan reseptor 4LXD.

Nilai ΔG pada hasil yang didapat menunjukkan besarnya energi yang dilepaskan oleh suatu senyawa untuk berinteraksi atau membentuk ikatan dengan reseptornya. Semakin kecil atau semakin besar minusnya menandakan semakin banyak energi yang digunakan untuk membentuk ikatan sehingga ikatannya semakin kuat (Pratama JP, Kurniawati N, 2023). Ikatan kovalen menghasilkan afinitas kuat atau lemah, biasanya bersifat reversibel. Semakin kecil nilai binding affinity maka afinitas antara reseptor dengan ligan semakin tinggi begitu pula sebaliknya semakin besar nilai binding affinity maka afinitas antara reseptor dengan ligan semakin rendah.

e. Visualisasi Hasil Molekuler Docking

Visualisasi hasil penambatan molekuler terhadap 3 target makromolekul digunakan untuk mengidentifikasi interaksi antara ligan uji dan target makromolekul. Analisis secara visual dilakukan dengan

membandingkan antara residu asam amino pada ligan uji dengan residu asam amino pada makromolekul (Pratama, Kurniawati dan Erikania, 2023). Hasil analisis visualisasi penambatan molekular terhadap 3 target makromolekul sebagai berikut:

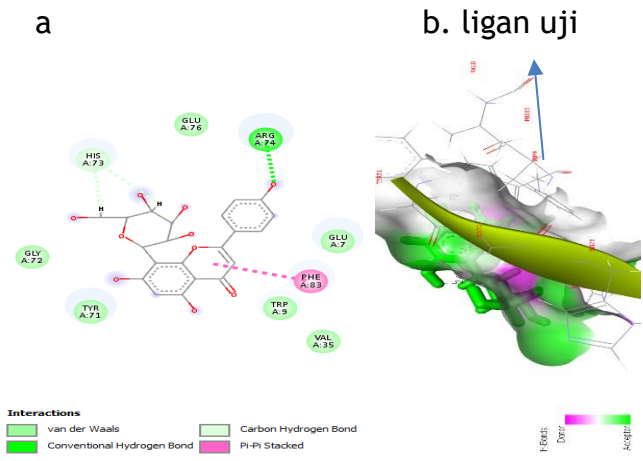
1. Hasil Visualisasi Penambatan Molekular Terhadap Protein *Chk1* (PDB ID:2R0U)

Tabel 3. Interaksi Asam Amino Ligan dengan Protein *Chk1* (PDB ID:2R0U)

Interaksi Residu Asam Amino			
Van Der Waals	Convventional Hydrogen Bond	Carbon Hydrogen Bond	Pi-Pi Stacked
GLY A:72	ARG A:74	HIS A:73	PHE A:83
TYR A:71			
TRP A:9			
VAL A:35			
GLU A:7			
GLU A:76			

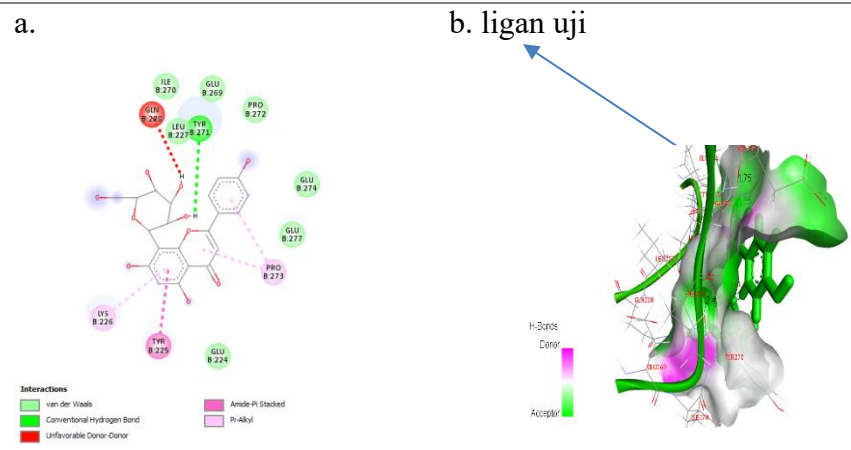
Interaksi antara ligan vitexin dan ketiga reseptor (2R0U, 6GUE & 4LXD) dapat dilihat diaplikasi Discovery Studio dalam bentuk 3D dan 2D. Pada visualisasi senyawa vitexin dengan 2R0U dapat dilihat gambar 4.1 adanya beberapa ikatan yang terbentuk sebagai hasil interaksi ligand-reseptor, yaitu ikatan van der waals terbentuk pada asam amino residu GLY A:72; TYR A:71; TRP A:9; VAL A:35; GLU A:7; GLU A:76. Ikatan conventional hydrogen bond terbentuk pada asam amino residu ARG A:74.

Hasil Visualisasi Penambatan Molekular Terhadap Protein *CyclinA* (PDB ID:6GUE)



Tabel 4. Interaksi Asam Amino Ligan dengan Protein CyclinA (PDB ID:6GUE)

Interaksi Residu Asam Amino				
Van Der Waals	Conventional Hydrogen Bond	Unfavorable Donor-Donor	Amide-Pi Stacked	Pi-Alkyl
ILE B:270	TYR B:271	GLN B:228	TYR B:225	LYS B:226
GLU B:269				PRO B:273
PRO B:272				
LEU B:227				
GLU B:274				
GLU B: 277				
GLU B:224				

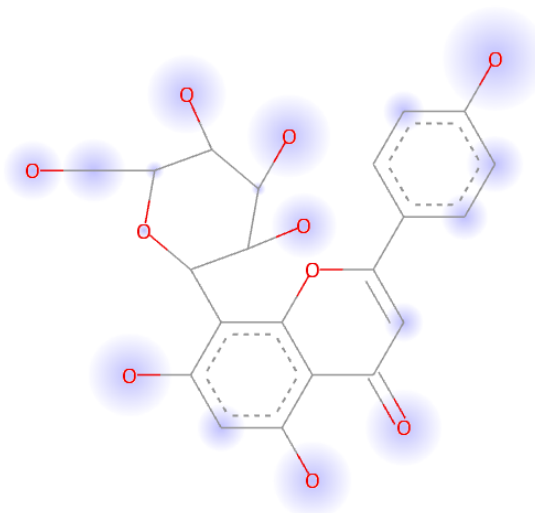


Gambar 1. Visualisasi 2D (a) dan Visualisasi 3D (b) hasil molekuler docking vitexin dengan reseptor 6GUE

Pada visualisasi senyawa vitexin dengan 6GUE dapat dilihat gambar

1 adanya beberapa ikatan yang terbentuk sebagai hasil interaksi ligand-reseptor, yaitu ikatan van der waals terbentuk pada asam amino residu ILE B:270; GLU B:269; PRO B:272; LEU B:227; GLU B:274; GLU B: 277; GLU B:224. Ikatan conventional hydrogen bond terbentuk pada asam amino residu TYR B:271. Ikatan Unfavorable Donor-Donor terbentuk pada asam amino residu GLN B:228. Ikatan Amide-Pi Stucked terbentuk pada asam amino residu TYR B:225. Ikatan Pi-Alkyl terbentuk pada asam amino residu LYS B:226; PRO B:273.

2. Hasil Visualisasi Penambatan Molekuler Terhadap Protein *Apoptosis Regulator Bcl-2* (PDB ID:4LXD)



Gambar 2. Visualisasi 2D hasil molekuler docking vitexin dengan reseptor 4LXD

Pada visualisasi senyawa vitexin dengan 4LXD dapat dilihat pada gambar 2 tidak adanya ikatan yang terbentuk sebagai hasil dari interaksi ligand-reseptor. Hal itu dikarenakan tidak adanya sisi aktif pada reseptor tersebut. Binding site (sisi aktif) merupakan suatu area pada protein yang akan menjadi tempat dimana ligan dan protein berikatan (Rena SR, Nurhidayah, 2022).

DISKUSI

a. Pengunduhan dan Preparasi Makromolekul Kanker Kolon

Pengunduhan protein target dilakukan melalui webserver Protein Bank Data (PDB) yang dapat diakses di <https://www.rcsb.org/>. Terdapat kriteria pemilihan protein yaitu resolusi $< 2,5 \text{ \AA}$, karena semakin kecil nilai RMSD maka akan semakin tinggi ketelitiannya dengan hasil kristalisasi menggunakan metode sinar-X dan mempunyai nilai mutasi nol serta berasal dari spesies yang relevan (Reynaldi dan Setiawansyah, 2022). Struktur makromolekul yang digunakan adalah *Chk1* (PDB ID:2R0U), *CyclinA* (PDB ID:6GUE) dan *Apoptosis Regulator Bcl-2* (PDB ID:4LXD).

Sedangkan preparasi makromolekul dilakukan dengan bantuan software AutodockTools. Langkah pertama yaitu melakukan penghilangan kadar air yang ada pada molekul, kemudian memisahkan ligan dari protein, selanjutnya menambatkan hydrogen dan muatan parsial. Struktur makromolekul yang sudah didapatkan disimpan dalam bentuk PDBQT. Terdapat 1 senyawa flavonoid aktif yang digunakan dari bunga kecombrang sebagai ligan uji yang diawali dengan mencari struktur 2D dari ligan uji tersebut menggunakan webserver Pubchem. Selanjutnya pengoptimasi geometri struktur 3D ligan uji menggunakan software Avogadro, optimasi geometri bertujuan untuk meminimalisasi energi agar struktur yang diperoleh paling stabil (Nurriszka Kurniawati, Ika Sutra Permirahayu, Aji Saputri dan, 2023). Hasil preparasi ligan uji berupa struktur 3D disimpan dalam format PDB yang digunakan sebagai uji docking.

b. Validasi Penambatan Molekuler

Proses validasi ini dilakukan menggunakan program AutoDockTools. Tujuannya adalah untuk mendapatkan parameter yang tepat untuk proses penambatan molekul. Validasi metode ini melibatkan redocking antara ligan asli dengan protein dari reseptor *Checkpoint Kinase 1 (Chk1)*, *CyclinA* dan *Apoptosis Regulator Bcl-2*. Selain itu, akan digunakan saat penambatan antara protein dengan ligan uji. Output yang didapatkan dari validasi metode ini adalah nilai *Root Mean Square Deviation (RMSD)*. RMSD digunakan untuk membandingkan pergeseran atau perubahan konformasi

molekul selama proses simulasi berlangsung (Sari, I.W., Junaidin, J. And Pratiwi, 2020). Nilai RMSD merupakan jarak yang ditimbulkan akibat interaksi antara ligan internal dengan protein target mulai nilai paling rendah hingga paling tinggi. Jadi, semakin kecil nilai RMSD dari ketentuan nilai spesifik RMSD maka semakin baik aplikasi tersebut digunakan untuk penambatan. Semakin besar nilai RMSD maka semakin besar pula penyimpangan yang terjadi (Ferwadi, 2017). Kecilnya nilai RMSD menunjukkan bahwa pose ligan hasil docking akan semakin mendekati pose ligan alami. (Ferwadi, 2017)

c. Penambatan Molekuler

Prosedur komputasional yang dikenal sebagai "penambatan molekuler" bertujuan untuk memprediksi secara efektif ikatan non-kovalen antara makromolekul (target) dan molekul kecil (ligan). Tujuan dari prosedur ini adalah untuk memprediksi konformasi ikatan yang akan terjadi berdasarkan afinitas ikatan yang telah terbentuk. Prediksi ini masuk akal karena digunakan sebagai *virtual screening* untuk bahan kimia yang mungkin berpotensi menjadi obat baru.

Penambatan molekuler untuk *virtual screening* dilakukan dengan menggunakan software *Autodock Tools*. Penambatan molekuler pada program Autodock menggunakan *docking algorithm*, yaitu *Lamarckian genetic algorithm* (LGA) untuk mencari mode pengikatan. Algoritma ini merupakan antara *genetic algorithm* (pencarian optimum global) dengan *local search* (pencarian optimum terlokalisasi). Pada program Autodock proses penambatan senyawa vitexin pada masing-masing protein target berlangsung sekitar 5-10 jam. Data hasil penambatan terhadap 3 protein target dapat dilihat pada tabel 4.4 sampai dengan tabel 4.6.

d. Analisis Penambatan Molekuler

Proses penambatan dari 1 ligan uji terhadap 3 protein target dilakukan untuk menentukan posisi dan ukuran gridbox dari masing-masing protein target dengan software *Autodock Tools*. Parameter yang akan diamati dalam proses docking (penambatan molekuler) yaitu nilai energi ikatan

($\Delta G_{binding}$). Semakin kecil nilai energi ikatan antara ligan dan reseptor maka semakin tinggi afinitasnya, begitu sebaliknya jika semakin besar nilai ikatan antara ligan dan reseptor maka semakin rendah pula afinitasnya.

Hasil penambatan dapat diamati menggunakan Biovia Discovery Studio Visualizer dengan membandingkan antara interaksi ligan internal dengan senyawa inklusi (Pratama JP, Kurniawati N, 2023). Ligan uji yaitu senyawa vitexin yang telah dioptimasi dan diprotonisasi selanjutnya di tambatkan dengan protein dari reseptor *Checkpoint Kinase 1 (Chk1)*, *Cyclin A*, dan *Apoptosis Regulator Bcl-2* yang telah dipreparasi menggunakan metode yang sama seperti validasi metode docking reseptor. Hasil visualisasi dari penambatan ligand uji dan protein dapat dilihat pada gambar 4.1 sampai dengan gambar 4.5.

Pada tabel 4.4 memperlihatkan nilai ΔG hasil simulasi *docking* vitexin dengan menggunakan reseptor *Checkpoint Kinase 1*. Nilai ΔG yang digunakan adalah nilai yang kecil, semakin kecil nilai ΔG maka semakin stabil dan semakin tinggi nilai afinitasnya. Berdasarkan nilai (ΔG) dari hasil binding affinity senyawa vitexin dan binding affinity native ligan pada tabel 4.3 diperoleh konformasi ligan yang bernilai negative dari keduanya, nilai dari binding energi ligan uji lebih besar yaitu (-5.75 kcal/mol) dibandingkan dengan binding energy dari native ligan (-10.81 kcal/mol) hal ini menunjukkan bahwa ikatan dari ligan uji lebih lemah dibandingkan dengan ikatan native ligan terhadap protein 2R0U. meskipun ikatan dari ligan uji lemah akan tetapi ligan uji dapat berikatan dengan reseptor dari 2R0U.(Rena SR, Nurhidayah, 2022) . Sama halnya seperti reseptor 2R0U, ikatan dari ligan uji lebih lemah dibandingkan dengan ikatan native ligan terhadap protein 6GUE. meskipun ikatan dari ligan uji lemah akan tetapi ligan uji dapat berikatan dengan reseptor dari 6GUE.(Rena SR, Nurhidayah, 2022).

Nilai ΔG pada hasil yang didapat menunjukkan besarnya energi yang dilepaskan oleh suatu senyawa untuk berinteraksi atau membentuk ikatan dengan reseptornya. Semakin kecil atau semakin besar minusnya menandakan semakin banyak energi yang digunakan untuk membentuk

ikatan sehingga ikatannya semakin kuat (Rena SR, Nurhidayah, 2022). Ikatan kovalen menghasilkan afinitas kuat atau lemah, biasanya bersifat reversibel. Semakin kecil nilai binding affinity maka afinitas antara reseptor dengan ligan semakin tinggi begitu pula sebaliknya semakin besar nilai binding affinity maka afinitas antara reseptor dengan ligan semakin rendah.

e. Visualisasi Hasil Molekuler Docking

Area ikatan (Binding Site) merupakan area dari pengikatan protein terhadap ligan yang akan mempengaruhi konformasi maupun fungsi dari protein. Binding site memperlihatkan residu-residu asam amino yang berperan penting dalam membentuk interaksi antara makromolekul dengan ligan seperti ikatan hydrogen, ikatan hidrofobik, dan ikatan elektrostatik (Saputri, M. I., Saputri, R. D., Rezaldi, F., Yenny, R. F., & Susilo, 2024). Menurut Saputri, *et al.*, (2024) Interaksi yang terjadi pada asam amino dan ligan tidak hanya berwujud interaksi ikatan hidrogen saja, namun terdapat interaksi non kovalen/non hidrogen lainnya, akan tetapi ikatan hidrogen jauh lebih berpengaruh dibandingkan ikatan non hidrogen. (Saputri, M. I., Saputri, R. D., Rezaldi, F., Yenny, R. F., & Susilo, 2024)

Berdasarkan hasil docking senyawa vitexin dengan 2R0U, diperoleh 9 residu asam amino yang berikatan, yaitu GLY A:72; TYR A:71; TRP A:9; VAL A:35; GLU A:7; GLU A:76; ARG A:74; HIS A:73; PHE A:83. Interaksi yang terbentuk antara ligan pembanding yaitu 5-Fluorouracil(5-FU) dengan 2R0U membentuk ikatan hidrogen pada residu asam amino ARG A:74 & HIS A:73 (Gambar 4.1). Untuk interaksi yang terbentuk antara ligan pembanding yaitu 5-Fluorouracil(5-FU) dengan 6GUE membentuk ikatan hidrogen pada residu asam amino TYR B:271 (Gambar 4.3). Hal itu dikarenakan adanya sisi aktif pada reseptor tersebut. Binding site (sisi aktif) merupakan suatu area pada protein yang akan menjadi tempat dimana ligan dan protein berikatan (Rena SR, Nurhidayah, 2022). Karena, nilai $\Delta G_{\text{binding}}$ yang terbentuk antara ligan dan protein target dipengaruhi oleh jumlah ikatan yang terbentuk, semakin banyak ikatan itu terbentuk maka nilai dari $\Delta G_{\text{binding}}$ akan menunjukkan hasil yang negatif dan menandakan ikatan tersebut semakin kuat dan menciptakan ikatan yang lebih stabil.

KESIMPULAN

Pada hasil akhir penelitian dapat disimpulkan bahwa vitexin diprediksi berpotensi menghambat enzim *Checkpoint Kinase 1 (Chk1)* dan *Cyclin A* dalam menekan pertumbuhan sel kanker. Tetapi untuk enzim *Apoptosis Regulator Bcl-2* dapat diprediksi tidak berpotensi dalam menghambat pertumbuhan sel kanker.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada Ibu Mira Miraturrofiah selaku ketua LPPM yang telah memberikan support pada penelitian ini.

KONFLIK KEPENTINGAN

Tidak ada konflik kepentingan pada penelitian ini.

REFERENSI

- Basir, I. E. al. (2014). *Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran: Kanker Kolorektal*. Komite Penanggulangan Kanker Nasional Kementerian Kesehatan,.
- Chen, Z. E. al. (2015). Dietary Patterns And Colorectal Cancer: Results From A Canadian Population-Based Study'. *Nutrition Journal*, 14(1), 1-9.
- Ferwadi, S. E. Al. (2017). Studi Docking Molekular Senyawa Asam Sinamat Dan Derivatnya Sebagai Inhibitor Protein 1j4x Pada Sel Kanker Serviks. *JURNAL KIMIA MULAWARMAN*, 14(2), 84-90.
- Firman Rezaldi, Opik Taupiqurrohman, M Fariz Fadillah, Agus Rochmat, Aji Humaedi, F. F. (2021). Identifikasi Kandidat Vaksin COVID-19 Berbasis Peptida dari Glikoprotein Spike SARS CoV-2 untuk Ras Asia secara In Silico. *Jurnal Biotek Medisiana Indonesia*, 10(1), 77-85.
- Ghasemzadeh A., Jaafar HZE., R. A. A. A. S. (2015). Secondary Metabolites Constituents and Antioxidant, Anticancer and Antibacterial Activities of *Etlingera elatior* (Jack) R.M. SM Grown in Different Locations of Malaysia. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15(335), 1-10.
- Kumar Vikas, J. V. K. (2016). Kombucha: Technology, microbiology, production, composition and therapeutic value. *International Journal of Food and Fermentation Technology*, 6(1), 13-24.

<https://doi.org/10.5958/2277-9396.2016.00022.2>

- Kurniawati, N., Saputri, I. S. P. A., & Rezaldi, F. (2023). Study of Computational Biotechnology (Bioinformatics) on Telang Flower Kombucha (*Clitoria Terantea L*) as an Immunomodulator to Suppress Immunoglobulin E (IgE) for Allergy Sufferers. *Jurnal Biologi Tropis*, 23(2), 348-354.
- Lachumy SJT., Sasidharan S., S. V. A. Z. Z. (2010). Pharmacological Activity, Phytochemical Analysis and Toxicity of Methanol Extract of *Etlingera elatior* (Torch Ginger) Flowers. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 3(10), 769-774.
- Laureys, David, Scott J. Britton, J. D. C. (2020). Kombucha Tea Fermentation: A Review. *Journal of The American Society of Brewing Chemst*, 78(3), 165-174. <https://doi.org/0.1080/03610470.2020.1734150>
- Nurriszka Kurniawati , Ika Sutra Permirahayu , Aji Saputri dan, F. R. (2023). Study of Computational Biotechnology (Bioinformatics) on Telang Flower Kombucha (*Clitoria Terantea L*) as an Immunomodulator to Suppress Immunoglobulin E (IgE) for Allergy Sufferers. *Int J Food Microbiol*, 23(2), 348-354.
- Pertiwi, F. D., Rezaldi, F., & Puspitasari, R. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Telang (*Clitoria ternatea L.*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *BIOSAIN TROPIS (BIOSCIENCETROPIC)*, 7(2), 57-68. <https://doi.org/https://doi.org/10.33474/e-jbst.v7i2.471>
- Pratama JP, Kurniawati N, E. S. (2023). Uji In Silico Senyawa Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) Sebagai Antikanker Kolorektal Serta Prediksi Profil Farmakokinertik dan Toksisitas. *Prosiding Seminar Informasi Kesehatan Nasional (SIKESNAS)*, 25-40.
- Rena SR, Nurhidayah, R. (2022). Analisis Molecular Docking Senyawa *Garcinia mangostana L* Sebagai Kandidat Anti SARS-CoV-2. *Jurnal Fisika Unand (JFU)*, 11(1), 82-88.
- Rezaldi, F., Maruf, A., Pertiwi, F. D., Fatonah, N. S., Ningtias, R. Y., Fadillah, M. F., Sasmita, H., & Somantri, U. W. (2021). Narrative Review: Kombucha's Potential As A Raw Material For Halal Drugs And Cosmetics In A Biotechnological Perspective. . . *International Journal Mathla'ul Anwar of Halal Issues*, 1(2), 43-56. <https://doi.org/https://doi.org/10.30653/ijma.202112.25>
- Rezaldi, Firman, Retna Yulrosly Ningtyas, S. D. A., & Ma'ruf, A. (2021). PENGARUH METODE BIOTEKNOLOGI FERMENTASI KOMBUCHA BUNGA

TELANG (*Clitoria ternatea* L) SEBAGAI ANTIBAKTERI GRAM POSITIF DAN NEGATIF. *Jurnal BIOTEK*, 9(2), 169. <https://doi.org/10.24252/jb.v9i2.25467>

- Saputri, M. I., Saputri, R. D., Rezaldi, F., Yenny, R. F., & Susilo, H. (2024). Aktivitas Antidiabetes Pada Senyawa Viteksin Kombucha Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L) Melalui Studi Bioteknologi Komputasi (Bioinformatika). *Jurnal Kesehatan Tujuh Belas (Jurkes TB)*, 5(2).
- Sari, I.W., Junaidin, J. And Pratiwi, D. (2020). Studi Molecular Docking Senyawa Flavonoid Herba Kumis Kucing (*Orthosiphon Stamineus* B.) Pada Reseptor AGlukosidase Sebagai Antidiabetes Tipe 2. *Jurnal Farmagazine*, 7(2).
- Smith, R. A., Andrews, K. S., Brooks, D., Fedewa, S. A., Manassaram-Baptiste, D., Saslow, D., & Wender, R. C. (2019). Cancer screening in the United States, 2019: A review of current American Cancer Society guidelines and current issues in cancer screening. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 69(3), 184-210.
- Taupiqurrohman, O., Rezaldi, F., Fadillah, M. F., Amalia, D., & Suryani, Y. (2022). Anticancer potency of dimethyl 2-(2-hydroxy-2-methoxypropylidene) malonate in kombucha. *Jurnal Biodjati*, 7(1), 86-94.
- Wieslaw Wiczowski , Dorota Szawara-Nowak, J. T. (2015). Changes in the content and composition of anthocyanins in red cabbage and its antioxidant capacity during fermentation, storage and stewing. *Food Chem*, 167, 115-123. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.087>