

Uji Network Pharmacology Dan Docking Moleculer Senyawa Metabolit Sekunder *Begonia willemii* Endemik Sulawesi Tengah Terhadap Reseptor Kanker Serviks

Jamaluddin ^{a, 1*}, Wa Ode Sitti Musnina ^{a, 2}, Muh. Risky Setiawan ^{a, 3}, Amelia Rumi ^{a, 4}

^a Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tadulako, Kota Palu, Indonesia

¹ jamal_farmasi02@yahoo.co.id*, ² waodesittimusnina@gmail.com, ³ riskysetiaawan2002@gmail.com, ⁴ amelia.rumi@gmail.com

*jamal_farmasi02@yahoo.co.id

Kata kunci:

Begonia willemii;
Kanker serviks;
Tumor serviks;
Neoplasm serviks

ABSTRAK

Kanker serviks merupakan salah satu jenis kanker yang paling banyak diderita perempuan di Indonesia yang disebabkan oleh infeksi *Human Papilloma Virus* (HPV) yang tumbuh di dalam leher rahim. *Begonia willemii* merupakan tanaman baru di Sulawesi Tengah yang digunakan sebagai antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui senyawa kimia yang terkandung dari ekstrak etanol *Begonia willemii* menggunakan LC-MS, dan mengidentifikasi protein yang berinteraksi dengan senyawa kimia *Begonia willemii* dalam jalur penyakit kanker serviks, serta mengetahui interaksi antara senyawa yang terkandung pada ekstrak etanol *Begonia willemii* dengan protein target sebagai antikanker serviks menggunakan metode molekuler docking. Metode penelitian ini dimulai dari preparasi sampel, kemudian diekstraksi maserasi selama tiga hari menggunakan pelarut etanol 96%, hasil ekstrak selanjutnya dianalisis menggunakan LC-MS, setelah itu dilakukan *Network pharmacology* untuk menentukan protein target penyakit kanker serviks dan di simulasi molekuler docking dengan *software Autodock 4.2*. Model protein diunduh dari Protein Data Bank dengan kode 6GU2. Hasil penelitian ini didapatkan persen rendemen pada ekstrak *Begonia willemii* sebesar 10,52%, terdapat 1 komponen senyawa yang terkandung dari hasil LC-MS yaitu *3-Chloro-4-methylaniline*, dan hasil *Network pharmacology* didapatkan yaitu protein CDK1 yang memiliki nilai *degree* tertinggi. Berdasarkan hasil molekuler docking dari protein CDK1 (PDB ID: 6GU2) diperoleh energi afinitas senyawa *3-Chloro-4-methylaniline* sebesar -5,4 kkal/mol dan energi afinitas Ribociclib (kontrol positif) sebesar -8,6 kkal/mol. Energi afinitas ligan alami (Flavopiridol) sebesar -9,9 kkal/mol. Berdasarkan hasil tersebut diketahui bahwa senyawa *3-Chloro-4-methylaniline* berpotensi sebagai antikanker serviks melalui inhibisi CDK1, namun efektivitasnya lebih rendah dibandingkan kontrol positif dan ligan alami.

Key word:

Begonia willemii;
Cervical cancer;
Cervical tumor;
Cervical neoplasm

ABSTRACT

Cervical cancer is one of the most common types of cancer suffered by women in Indonesia, caused by infection with the *Human Papilloma Virus* (HPV) which grows in the cervix. *Begonia willemii* is a new plant in Central Sulawesi that is used as an anticancer. This study aims to determine the chemical compounds contained in the ethanol extract of *Begonia willemii* using LC-MS, and identify proteins that interact with the chemical compounds of *Begonia willemii* in the cervical cancer disease pathway, and determine the interaction between compounds contained in the ethanol extract of *Begonia willemii* with target proteins as cervical anticancer using the molecular docking method. This research method starts from sample preparation, then maceration extraction for

three days using 96% ethanol solvent, extract results are then analyzed using LC-MS, after which Network pharmacology is carried out to determine the target protein for cervical cancer and in molecular docking simulations with Autodock 4.2 software. The protein model was downloaded from the Protein Data Bank with the code 6GU2. The results of this study obtained a percentage yield of *Begonia willemii* extract of 10.52%, there was 1 compound component contained in the LC-MS results, namely *3-Chloro-4-methylaniline*, and results of Network pharmacology obtained CDK1 protein which has the highest degree value. Based on results of molecular docking of the CDK1 protein (PDB ID: 6GU2), the affinity energy of the *3-Chloro-4-methylaniline* compound was obtained at -5.4 kcal/mol and the affinity energy of Ribociclib (positive control) was -8.6 kcal/mol. The affinity energy of the natural ligand (Flavopiridol) was -9.9 kcal/mol. Based on these results, it is known that the compound *3-Chloro-4-methylaniline* has the potential to be an anti-cervical cancer agent through CDK1 inhibition, but its effectiveness is lower than the positive control and natural ligand.

Pendahuluan

Kanker merupakan salah satu penyakit yang diakibatkan karena pertumbuhan yang tidak normal sel jaringan tubuh yang akan menjadi sel kanker. Dimana terjadi pada pertumbuhan sel-sel normal melalui proses kesalahan yang berubah menjadi sel-sel ganas yang berproliferasi dengan cepat. Sel-sel jaringan darah akan mengalami pembelahan secara terus-menerus yang akan mengalami pertumbuhan yang meningkat (Hidayah *et al.*, 2023). Menurut *World Health Organization* (WHO) menyebutkan bahwa pada tahun 2022 terdapat hampir 20 juta kasus baru dan 9,7 juta kematian akibat kanker di seluruh dunia. Berdasarkan laporan dari *The Global Cancer Observatory* (GLOBOCAN) pada tahun 2021 bahwa kasus terbaru kanker serviks di Indonesia mencapai 17,2% atau sebesar 36.633 jiwa yang menempati posisi kedua setelah kanker payudara dan menempati posisi ketiga penyebab kematian akibat seluruh kanker (Khairunnisa *et al.*, 2023).

Pengobatan kanker saat ini masih didominasi oleh kemoterapi, radioterapi, dan operasi. Penggunaan metode terapi tersebut tergantung pada jenis kanker dan stadium perkembangannya yang masih menggunakan pembedahan, radiasi, dan kemoterapi. Metode tersebut memiliki kekurangan, diantaranya pembedahan konvensional menyebabkan pasien kehilangan seluruh atau sebagian anggota tubuhnya. Terapi radiasi menggunakan sinar laser berkekuatan tinggi, sedangkan kemoterapi menggunakan zat kimia atau obat-obatan yang memiliki efek samping seperti rambut rontok, supresi sumsum tulang, resistensi terhadap obat, disfungsi neurologi dan pengobatan kanker melalui metode terapi juga memakan biaya yang relatif mahal (Zafrial & Amalia, 2018).

Secara empiris, beberapa jenis tumbuhan dari spesies *Begonia* telah dimanfaatkan sebagai alternatif pengobatan kanker oleh masyarakat, diantaranya *Begonia* sp., *Begonia trichocarpa*, dan *Begonia medicinalis* yang telah dibuktikan secara ilmiah memiliki khasiat sebagai antikanker (Anam *et al.*, 2014). Kandungan senyawa pada tanaman *Begonia* sp. yaitu senyawa flavonoid dinilai mempunyai aktivitas antikanker (Tandi *et al.*, 2020). Penelitian tersebut didukung dengan hasil analisis komponen kimia dari ekstrak benalu batu (*Begonia medicinalis*) yang dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) menunjukkan bahwa senyawa golongan polifenol flavonoid berkontribusi terhadap aktivitas antikanker serta dilaporkan memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker serviks (HeLa) dengan nilai IC_{50} sebesar 70,97 $\mu\text{g/mL}$ (Anam *et al.*, 2014). Selain itu, tanaman lainnya dengan genus yang sama yaitu tanaman *Begonia trichocarpa* (MEBT) yang telah diteliti untuk mengevaluasi efek apoptosis pada sel kanker serviks (HeLa), hasilnya menunjukkan bahwa MEBT memiliki aktivitas antiproliferasi terhadap sel HeLa dengan nilai IC_{50} sebesar 24,05 $\mu\text{g/ml}$ (Jose *et al.*, 2020). Berdasarkan riset-riset tersebut yang menyatakan bahwa genus *Begoniaceae* memiliki potensi sebagai antikanker. Hal ini sejalan dengan pendekatan kemotaksonomi yang menyatakan bahwa tanaman dalam satu genus yang sama cenderung mengandung senyawa kimia yang sama, sehingga memperkuat dugaan bahwa spesies lain dalam genus *Begoniaceae* juga berpotensi memiliki aktivitas antikanker yang sama. Oleh karena itu, *Begonia willemii* diduga memiliki potensi sebagai antikanker. Namun, belum ada laporan ilmiah tentang senyawa-senyawa yang terkandung dalam *Begonia willemii*.

Aktivitas biologi yang dimiliki tanaman *Begonia* banyak dipengaruhi oleh senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya (Harborne, 1999). Senyawa tersebut memiliki berbagai macam aktivitas biologi yang beragam, tergantung pada jenis senyawa dan target biologis yang diinteraksikan. Untuk mengidentifikasi senyawa pada tanaman *Begonia willemii* diperlukan uji aktivitas yang relevan. Identifikasi senyawa ini umumnya dilakukan melalui teknik *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (LC-MS). Teknik ini memungkinkan pemisahan senyawa berdasarkan tingkat kepolarannya, identifikasi berat molekul dengan spektroskopi massa, serta karakterisasi struktur kimia senyawa secara akurat. LC-MS merupakan metode yang andal dan efisien untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder dalam sampel kompleks (Alseekh *et al.*, 2021).

Pendekatan *Network pharmacology* juga digunakan untuk memahami mekanisme kerja senyawa secara holistic melalui pemetaan hubungan antara senyawa bioaktif, target protein, dan jalur biologis yang terkait. *Network pharmacology* sangat bermanfaat dalam menganalisis berbagai efek target dari senyawa alami, karena aktivitas biologis metabolit sekunder biasanya melibatkan beberapa target molekuler (Hopkins, Andrew, 2008; Zhang *et al.*, 2024). Protein target potensial diidentifikasi melalui *Network pharmacology*, dilakukan *Molecular docking* untuk mensimulasikan interaksi antara senyawa metabolit sekunder dengan target protein tersebut. *Molecular docking* memungkinkan penilaian afinitas dan stabilitas interkasi, sehingga dapat membantu memprediksi efektivitas senyawa bioaktif pada tingkat molekuler (Morris, Garrett & Lim-Wilby, 2008).

Berdasarkan latar belakang diatas, riset dilakukan dengan melibatkan *metabolite profiling* pada tumbuhan *Begonia willemii* untuk menganalisis senyawa yang ada dalam tumbuhan tersebut melalui metode LC-MS. Kemudian dilanjutkan dengan penelitian *Network pharmacology* dan *Docking molecular* yang bertujuan untuk mengidentifikasi target molekuler serta mengetahui mekanisme kerja dari senyawa *Begonia willemii* dalam pengembangan terapi antikanker serviks yang lebih efektif dengan menggunakan pendekatan komputasi.

Metode

1. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis eksperimental dengan desain pre-eksperimental dengan menggunakan metode *in silico* melalui analisis *Network pharmacology* dan *Molecular docking*.

2. Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei - Desember 2024. Tumbuhan ini diambil di lokasi Suaka Margasatwa Pinjan Tanjung Matop, Pinjan, Kec. Toli-toli Utara, Kabupaten Toli-toli, Sulawesi Tengah. Determinasi tumbuhan dilakukan di Laboratorium Biosistematika Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tadulako. Pembuatan ekstrak *Begonia willemii* dilakukan di Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia, Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tadulako dan uji LC-MS dilakukan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu, Universitas Gadjah Mada.

3. Alat dan Bahan

Alat

Alat yang digunakan yaitu kamera, laptop ASUSTeK dengan RAM 4GB dengan spesifikasi prosesor intel (R) Core (TM) i5-7200U @ 2.50GHz (4 CPU) menjalankan Windows 10 Pro (64-bit), Neraca analitik, Rotary evaporator, Alat maserasi berupa toples dan saringan. Berbagai program software yang digunakan antara lain PubChem database versi 1.8.1, Command prompt, String, PyMOL versi 2.5, Discovery Studio 2021, PDB (rcsb.org), AutoDockTools versi 1.5, ChemDraw untuk Windows 11, Chem 3D, Cytoscape versi 3.31.1, Enrichment, Metascape versi 3.5, dan seperangkat alat *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (LC-MS).

Bahan

Bahan yang digunakan yaitu serbuk simplisia tumbuhan *Begonia willemii*, etanol 96%, handscoon, masker, aluminium foil, tissue, aquadest, data struktur 3D kristal reseptor yang digunakan untuk analisis molekuler docking yang diperoleh dari Protein Data Bank (PDB) dengan situs <https://rcsb.org/pdb/>. Reseptor yang digunakan adalah kode PDB ID:6GU2. Bahan yang digunakan pada analisis LC-MS yaitu 0,1% asam format dalam air (larutan A) dan 0,1% asam format dalam asetonitril (larutan B).

4. Prosedur Penelitian

4.1. Pengambilan dan Identifikasi Sampel

Tanaman diambil di lokasi Suaka Margasatwa Pinjan Tanjung Matop, Pinjan, Kec. Toli-toli Utara, Kabupaten Toli-toli, Sulawesi Tengah. Determinasi tumbuhan dilakukan di Laboratorium Biosistematika Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tadulako, untuk memastikan bahwa tanaman yang digunakan adalah benar *Begonia willemii*.

4.2. Ekstraksi Tumbuhan *Begonia willemii*

Daun *Begonia willemii* diekstraksi menggunakan metode maserasi yang direndam selama 24 jam menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 200 gram serbuk : 1000 ml pelarut. Setelah 24 jam, larutan disaring menggunakan saringan. Ampas kemudian direndam kembali menggunakan pelarut etanol selama 24 jam, dan disaring lagi (ekstraksi dilakukan 3 kali selama 24 jam). Hasil penyaringan dikumpulkan dan dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer, lalu diuapkan menggunakan alat *vacuum rotary evaporator* yang diletakkan di atas *water bath* hingga menjadi ekstrak kental. Setelah itu, ekstrak kental ditimbang dan dihitung rendemennya.

4.3. Identifikasi Senyawa Metabolit Menggunakan LC-MS

Sampel dipisahkan menggunakan kolom C18, proses elusinya menggunakan 0,1 % asam format dalam air (larutan A) dan 0,1 % asam format dalam asetonotril (larutan B), setelah 25 menit, 90 % larutan A dan 10 % larutan B secara bertahap akan berubah menjadi 30% larutan A, dan 70 % larutan B. Volume injeksinya adalah 10 ML, lalu sampel dibawah menuju ke spektrofotometer massa (ESI) untuk selanjutnya dilakukan penentuan secara kualitatif dengan laju alir 0,3 ml/menit, temperatur kapilernya diatur 150°C tegangan spray ion 4 KV dan tegangan kapilernya 36 v (Kuna & Mappa, 2022).

4.4. Uji *Network Pharmacology*

a. Pengambilan Data Fitokonstituen dan Target

Daftar fitokonstituen diambil dari rumus molekul, berat molekul, CID PubChem, kunci InChI, dan SMILES kanonik diperoleh dari PubChem basis data. Target yang terlibat dalam kanker serviks diambil dari Target Terapeutik Database (<https://db.idrblab.net/ttd/>), OMIM (<https://www.omim.org/>), GeneCards, Drugbank dan Disgenet (<https://www.disgenet.org/>), lalu diterjemahkan di website Uniprot (<https://www.uniprot.org/id-mapping>). Serta pengumpulan database protein senyawa uji diperoleh dari tiga website yaitu Swisstarget, Targetnet (<https://targetnet.scbdd.com>), dan SEA (<https://sea.bkslab.org/>) dengan kata kunci *Cervical cancer*, *Cervical endoplasm*, *Cervical tumor* dan dicocokkan silang dengan protein yang diatur oleh senyawa bioaktif *Begonia willemii*.

b. Ekspresi Gen dan Analisis Enrichment

Basis data UniProt (<https://www.uniprot.org/>) digunakan untuk mengidentifikasi kode gen protein teregulasi yang ditanyakan dalam STRING25 (<https://string-db.org/>) untuk analisis GO. Demikian pula, jalur yang terlibat dalam kanker serviks diidentifikasi berdasarkan database KEGG (<https://www.genome.jp/kegg/>). Selain itu, jaringan antara bioaktif, protein, dan jalur dibangun menggunakan Cytoscape (<https://www.cytoscape.org/>) serta dihilangkan duplikasinya. Database yang didapatkan digunakan sebagai acuan dalam melakukan pengujian komputasi terkait senyawa metabolit sekunder *Begonia willemii* terhadap reseptor kanker serviks, kemudian hasil komputasi akan dievaluasi menggunakan teknologi *docking molecular*.

4.5. *Molecular Docking*

a. Preparasi Ligan

Ligan atau senyawa dari tumbuhan *Begonia willemii* diambil dari web Protein Data Bank (PDB). Kemudian dilakukan optimasi geometri menggunakan *software* Chem3D, hasil optimasi tersebut kemudian dikonversi untuk dijadikan file PDBQT. Setelah itu, dilakukan penyiapan senyawa uji dengan menggunakan AutoDockTools 1.5.

b. Preparasi Protein

Protein yang digunakan diunduh dari Protein Data Bank (PDB). Protein atau reseptor yang berupa makromolekul protein dipisahkan dari molekul lain yang tidak diperlukan beserta ligannya. Pemisahan dilakukan menggunakan Discovery Studio 2021. Pengoptimasian untuk penambahan atom hidrogen dan *Compute Gasteier* menggunakan AutoDockTools 1.5.

c. Validasi Metode Docking

Validasi metode docking dilakukan dengan cara metode redocking menggunakan ligan alami (Flavopiridol) dari co-crystal yang terdapat pada reseptor dengan kode PDB (6GU2) dengan cara menghitung RMSD (*Root Mean Square Distance*) dengan cara Analyze> RMSD of > *Molecules*. Nilai RMSD < 2,0 Å biasanya digunakan sebagai kriteria validitas metode docking.

d. Docking Ligan Uji Terhadap Protein

Pengaturan grid box parameter dilakukan menggunakan AutoDockTools 1.5. Koordinat grid box ditentukan berdasarkan koordinat ligan co-kristal dari file protein yang digunakan pada saat validasi, kemudian dilakukan proses penambatan menggunakan AutoDock Vina.

e. Analisa dan Visualisasi Hasil Docking

Penentuan konformasi ligan hasil docking (pose terbaik) dilakukan dengan memilih konformasi ligan yang memiliki energi ikatan (*binding energy*) paling rendah. Hasil docking dengan pose terbaik kemudian dianalisa menggunakan Discovery Studio 2021. Parameter yang dianalisa meliputi residu asam amino, ikatan hidrogen, konstanta inhibisi prediksi, dan energi bebas ikatan.

5. Analisis Data

Data yang diperoleh di analisis secara deskriptif menggunakan *software* BIOVIA Discovery Studio 2021 pada sisi *binding site* berupa hasil molecular docking, yaitu energi ikatan. Energi ikatan digunakan untuk menunjukkan kekuatan ikatan antara senyawa dengan protein. Semakin rendah nilai energi ikatan, maka ikatan yang terbentuk semakin kuat dan stabil. Jenis ikatan yang terbentuk digunakan untuk menganalisis mekanisme interaksi yang terbentuk.

Hasil dan Pembahasan

Hasil Penelitian

1. Identifikasi Tumbuhan

Tumbuhan ini diambil di lokasi Suaka Margasatwa Pinjan Tanjung Matop, Pinjan, Kecamatan Toli-toli Utara, Kabupaten Toli-toli, Sulawesi Tengah. Determinasi dilakukan untuk memastikan bahwa tumbuhan yang digunakan sudah tepat yaitu tumbuhan *Begonia willemii*. Identifikasi dilakukan di Laboratorium Biosistematika Tumbuhan, Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Tadulako, Kota Palu, Sulawesi Tengah. Berdasarkan hasil identifikasi tumbuhan menyatakan bahwa tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini sudah benar merupakan tumbuhan *Begonia willemii* Ardi, Girm. & D.C. Thomas. yang termasuk ke dalam family Begoniaceae.

2. Ekstrak Etanol Tumbuhan *Begonia willemii*

Serbuk simplisia *Begonia willemii* diekstraksi dengan metode maserasi yang dilakukan selama 3 hari menggunakan pelarut etanol 96%. Hasil ekstrak dapat dilihat pada Tabel 1. dimana didapatkan persen rendemen, yaitu sebesar 10,52%.

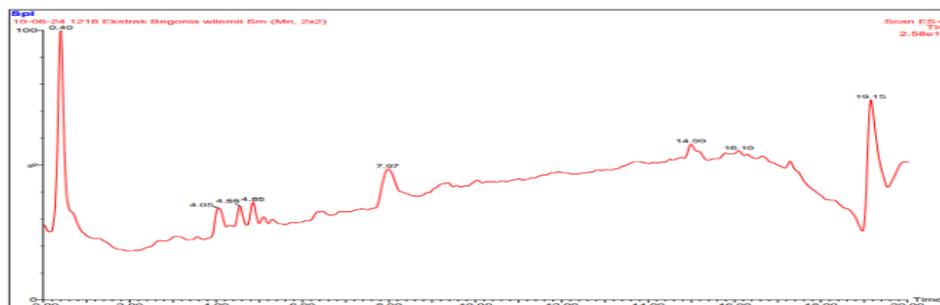
Tabel 1. Hasil Rendemen Ekstrak Etanol *Begonia willemii*

| Sampel | Bobot Sampel (g) | Bobot Ekstrak (g) | % Rendemen |
|--------|------------------|-------------------|------------|
|--------|------------------|-------------------|------------|

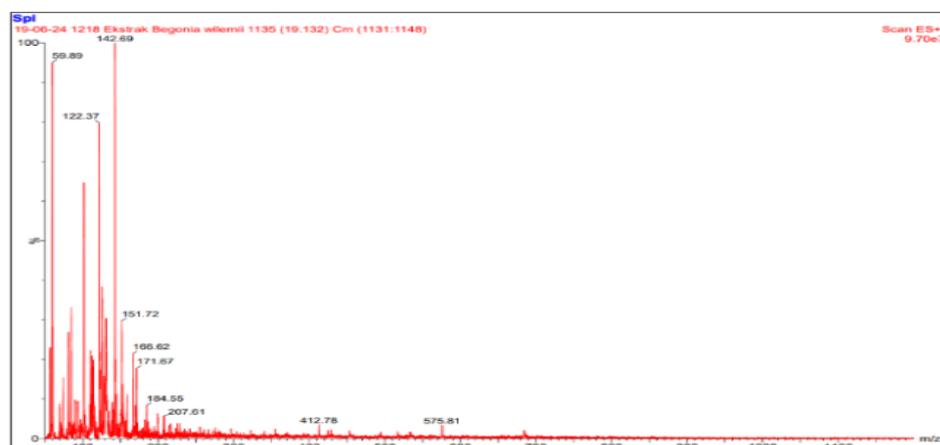
| | | | |
|---|--------|-------|--------|
| Daun dan batang <i>Begonia willemii</i> | 193,81 | 20,40 | 10,52% |
|---|--------|-------|--------|

3. Identifikasi Senyawa Metabolit Menggunakan LC-MS

Hasil identifikasi senyawa menggunakan metode LC-MS pada ekstrak etanol *Begonia willemii* dinyatakan dalam waktu retensi (*Retention time*) seperti pada Gambar 1. dan kromatogram seperti pada Gambar 2. serta kandungan senyawa dapat dilihat pada Tabel 2.



Gambar 1. Hasil Waktu Retensi (*Retention time*) LC-MS dari Ekstrak Etanol *Begonia willemii*



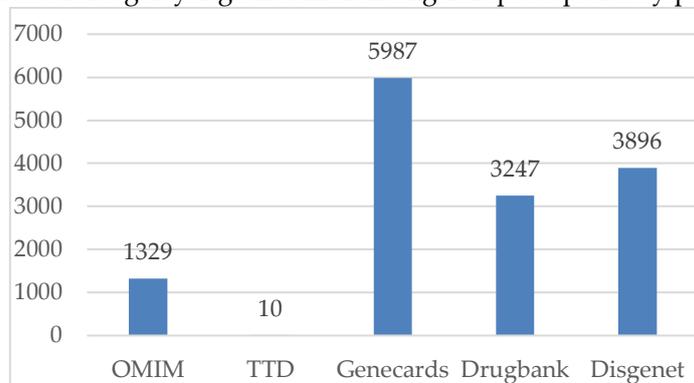
Gambar 2. Hasil Kromatogram LC-MS dari Ekstrak Etanol *Begonia willemii*

Tabel 2. Hasil Analisis LC-MS Senyawa Ekstrak Etanol *Begonia willemii*

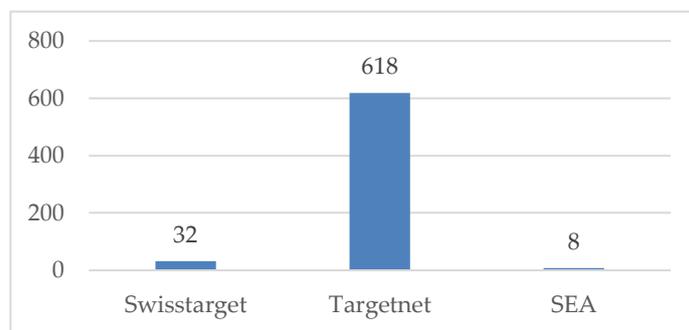
| Nama senyawa | Waktu retensi (menit) | m/z | Rumus molekul | Pola fragmentasi | Rumus struktur |
|--------------------------|-----------------------|--------|-----------------------------------|--|---|
| 3-Chloro-4-methylaniline | 19,15 | 142.69 | C ₇ H ₈ ClN | 59.89; 122.37; 142.69; 151.72; 166.62; 171.67; 184.55; 207.61; 412.78; 575.81 |  |

4. Hasil Uji Network Pharmacology

Protein potensial dari gabungan database penyakit dan senyawa *Begonia willemii* dapat dilihat pada Gambar 3. dan Gambar 4. dengan syarat p -Value = 0.05 diperoleh sebanyak 18 cluster, yang terpilih adalah cluster 5 karena gen yang dihasilkan mengarah pada pathway penyakit kanker serviks.



Gambar 3. Hasil Database Gen Penyakit



Gambar 4. Hasil Database Protein Senyawa Uji

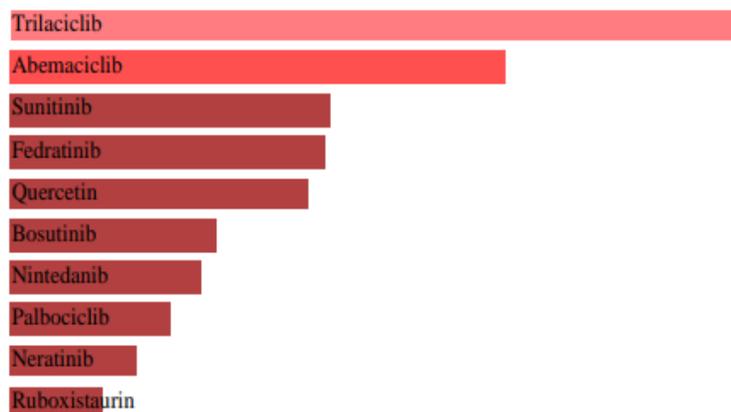
Tabel 3. Daftar Protein Potensial dari Senyawa *Begonia willemii* Terhadap Penyakit Kanker Serviks

| Gene | Degree | Betweenness Centrality | Closeness Centrality |
|-------|--------|------------------------|----------------------|
| CDK1 | 23 | 0.016 | 0.362 |
| CDK4 | 21 | 0.008 | 0.371 |
| CDK2 | 21 | 0.006 | 0.362 |
| PLK1 | 14 | 0.004 | 0.344 |
| CCNA1 | 11 | 6.689 | 0.303 |
| AURKA | 10 | 0.002 | 0.327 |
| WEE1 | 8 | 5.765 | 0.343 |
| CDK7 | 7 | 2.624 | 0.322 |
| KIF11 | 7 | 8.692 | 0.282 |
| CHEK2 | 6 | 3.362 | 0.307 |
| CDC7 | 5 | 3.635 | 0.285 |
| CCNE2 | 5 | 6.152 | 0.278 |
| TYMS | 4 | 0.004 | 0.276 |

Hasil KEGG dapat dilihat pada gambar berikut yang menunjukkan bahwa pada bagian *Disease/Drugs* ditemukan kata yang berhubungan dengan penyakit kanker serviks yaitu “Quercetin” (Gambar 5.),

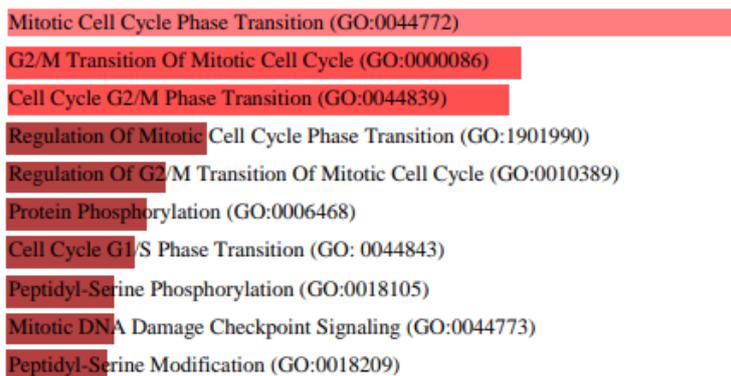
proses biologi gen terjadi pada fase transisi mitosis sel (Gambar 6.), komponen seluler yang terlibat yaitu nucleus (Gambar 7.), dan pathway utama terdapat pada protein Serine/ Threonine Kinase Activity (Gambar 8.).

IDG Drug Targets 2022



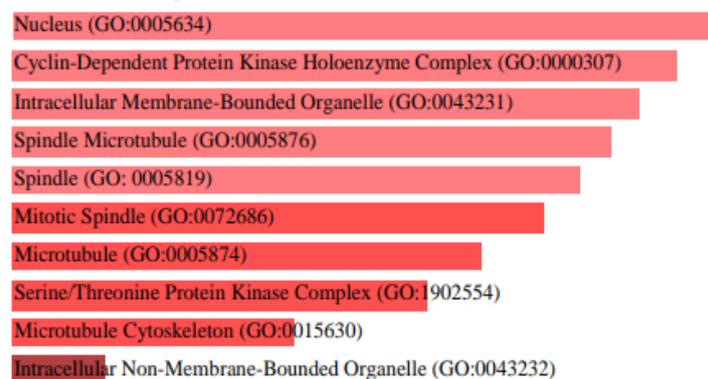
Gambar 5. KEGG 2023 HUMAN Drugs

GO Biological Process 2023



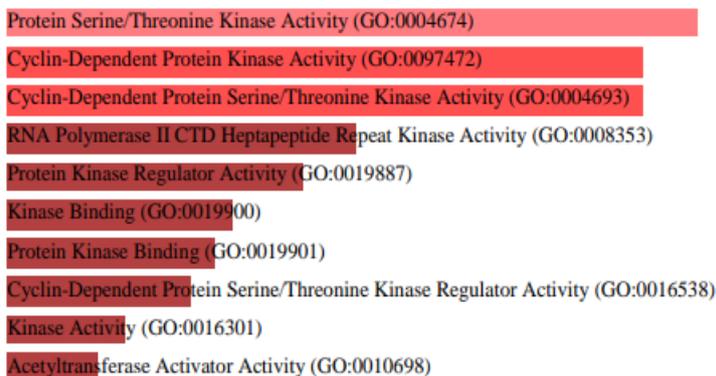
Gambar 6. KEGG 2023 HUMAN Cluster 1

GO Cellular Component 2023



Gambar 7. KEGG 2023 HUMAN Cluster 2

GO Molecular Function 2023



Gambar 8. KEGG 2023 HUMAN Cluster 3

5. Hasil Validasi Docking

Hasil validasi docking dapat dilihat pada Tabel 4. dimana dilakukan validasi internal, yaitu mendocking kembali ligan alami sesuai koordinatnya (*redocking*), ligan alami yang digunakan berasal dari reseptor protein CDK1 dengan kode PDB ID: 6GU2.

Tabel 4. Hasil Validasi Docking Ligan Alami (Flavopiridol) Dengan Reseptor (CDK1)

| Kode PDB | Energi Ikatan (kkal/mol) | RMSD (Å) |
|----------|--------------------------|----------|
| 6GU2 | -9,9 | 1,432 |

6. Molecular Docking

Hasil penambatan molekul atau molecular docking senyawa *Begonia willemii* dengan reseptor protein CDK1 (PDB ID: 6GU2) dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil *Molecular Docking* pada Reseptor CDK1

| Protein Target | Senyawa Ligan Uji | Energi Ikatan (kkal/mol) |
|-----------------|------------------------------|--------------------------|
| CDK1 (ID: 6GU2) | Ribociclib (kontrol positif) | -8,6 |
| | 3-Chloro-4-methylaniline | -5,4 |

7. Visualisasi Molecular Docking

Visualisasi molecular docking terhadap senyawa yang berpotensi sebagai antikanker serviks dilakukan menggunakan *Biovia Discovery Studio*. Hasil interaksi asam amino dapat dilihat pada Tabel 6. yang menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara senyawa ligan uji dan reseptor protein CDK1 dengan ligan alami (Flavopiridol) sebagai pembanding serta Ribociclib sebagai (kontrol positif), yaitu membentuk ikatan hidrogen, van der Waals, dan hidrofobik.

Tabel 6. Hasil Interaksi Asam Amino

| Senyawa Molekuler | Ikatan dengan Asam Amino | | | |
|---------------------------------|-----------------------------|------------------------------------|---|---|
| | Energi Ikatan (kkal/mol) | Ikatan Hidrogen | Ikatan Hidrofobik | Ikatan Van Der Waals |
| Native ligand (Flavopiridol) | -9,9 | Leu83, Asp146, Asn133 | Ala31, Leu135 | Phe82, Glu81, Phe80, Val64, Lys33, Ala145, Gln132, Tyr15, Met85, Val18, Asp86, Ile10, Gly11 |
| Ribociclib (Kontrol positif) | -8,6 | Leu83, Lys33 | Leu135, Ala145, Ala31, Val18 | Ser84, Ile10, Met85, Asp86, Phe82, Gln132, Asn133, Asp146, Phe80, Val64 |
| <i>3-Chloro-4-methylaniline</i> | -5,4 | - | Phe80, Ala145, Ala31, Val64, Lys33, Val18 | Asp146, Leu55, Glu51, Phe147 |

Pembahasan

Penelitian ini merupakan penelitian *in silico* yang dilakukan untuk mengetahui protein target potensial dari senyawa *Begonia willemii* yang berpotensi sebagai antikanker serviks menggunakan *Network Pharmacology* dan *Molecular Docking*. Kanker merupakan suatu penyakit yang menyebabkan kematian. Kanker serviks dikenal juga sebagai kanker leher rahim adalah hasil dari pertumbuhan sel-sel yang tidak normal di rahim. Sel-sel yang mengalami perubahan ini akhirnya menjadi kanker. Kanker leher rahim adalah jenis kanker yang berkembang pada bagian serviks uterus, yang merupakan wilayah di organ reproduksi wanita yang berada di antara uterus dan vagina (Pratiwi & Nawangsari, 2022).

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tumbuhan *Begonia willemii* yang telah diidentifikasi di Laboratorium Biosistemika Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tadulako, Palu, Sulawesi Tengah. Tujuan identifikasi, yaitu untuk menetapkan dan membuktikan kebenaran sampel yang digunakan dalam penelitian. Hasil identifikasi

menyatakan bahwa tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini benar merupakan tumbuhan *Begonia willemii* yang berasal dari familia Begoniaceae.

Pembuatan ekstrak tumbuhan *Begonia willemii* dilakukan menggunakan metode ekstraksi maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Penelitian ini menggunakan pelarut etanol 96% karena bersifat polar, selektif, tidak toksik, absorpsinya baik dan kemampuan penyariannya yang tinggi sehingga dapat menyari senyawa yang bersifat non-polar, semi polar, dan polar. Pelarut etanol 96% lebih mudah masuk berpenetrasi ke dalam dinding sel sampel daripada pelarut etanol dengan konsentrasi lebih rendah, sehingga menghasilkan ekstrak yang pekat (Wendersteyt *et al.*, 2021).

Berdasarkan data hasil penelitian pada **Tabel 1**, didapatkan ekstrak kental sebanyak 20,40 g dengan persen rendemen sebesar 10,52%. Hasil yang diperoleh sudah sesuai dengan literatur (Saerang *et al.*, 2023) bahwa syarat rendemen ekstrak yang baik yaitu rendemen tidak kurang dari 10%. Menurut (Sobari *et al.*, 2022) hasil rendemen dari suatu sampel sangat diperlukan untuk mengetahui seberapa banyak hasil ekstrak yang dihasilkan selama proses ekstraksi. Hasil rendemen juga mempunyai hubungan dengan senyawa aktif dari sampel, jika nilai rendemen semakin tinggi maka senyawa aktif yang terkandung dalam sampel juga semakin besar.

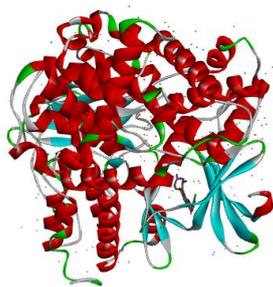
Hasil analisis *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (LC-MS) yang dilakukan pada ekstrak *Begonia willemii* mengungkapkan bahwa pada waktu retensi (*Retention time*) menit 19.15 seperti pada **Gambar 1**, berhasil mengidentifikasi satu senyawa dengan nilai ≥ 100 , yaitu senyawa 3-Chloro-4-methylaniline dapat dilihat pada **Tabel 2**. Senyawa ini adalah senyawa organik yang termasuk dalam kategori amino aromatik. Dalam jurnal yang diterbitkan oleh (Otuokere & Chinweuba, 2011) bahwa senyawa 3-chloro-4-methyl-N-[(1E)-1-phenylethylidene] aniline yang disintesis dengan kondensasi 1-feniletanon dengan 3-kloro-4-metilanilin dan diteliti aktivitas fungsinya. Penelitian ini juga mencatat bahwa kompleks logam dari senyawa tersebut menunjukkan aktivitas farmakologis, termasuk potensi antikanker, baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Beberapa senyawa organik kategori amino aromatik lainnya menunjukkan adanya potensi sebagai antikanker. Penelitian ini melaporkan senyawa amino aromatik seperti 1-amino-4-phenoxybenzene dan 2-(4-aminophenoxy) naphthalene. Uji aktivitas biologis menunjukkan bahwa hampir semua senyawa yang dihasilkan memiliki nilai LD50 < 1 µg/mL dan menunjukkan aktivitas antitumor yang signifikan dengan nilai IC50 berkisar antara 67,45 hingga 12,2 µg/mL (Ismail *et al.*, 2015). Hal ini mengindikasikan potensi senyawa tersebut dalam pengembangan terapi kanker khususnya untuk kanker serviks, namun belum mengungkapkan bagaimana mekanisme kerja molekulernya.

Network pharmacology mengintegrasikan data dari berbagai sumber untuk memetakan hubungan yang ada dan menganalisis jaringan antara obat alami dan gen target, sehingga memungkinkan identifikasi target potensial berdasarkan prinsip multi-komponen dan multi-target. Pengumpulan data ini bertujuan untuk memperdalam pemahaman mengenai interaksi antara senyawa aktif dan gen target. Beberapa basis data digunakan untuk memprediksi gen target yang berhubungan dengan senyawa aktif dari *Begonia willemii*. Secara khusus, gen target diidentifikasi yaitu OMIM, TTD, Genecards, Drugbank dan Disgenet dengan menggunakan kata kunci *Cervical cancer*, *Cervical neoplasm*, *Cervical tumor*. Database yang sudah terkumpul kemudian diterjemahkan menggunakan website Uniprot (<https://www.uniprot.org/id-mapping>). Hasil database gen penyakit dapat dilihat pada **Gambar 3**, dimana didapatkan untuk OMIM sebanyak 1.329 gen, TTD sebanyak 10 gen, Genecards sebanyak 5.987 gen, Drugbank sebanyak 3.247 gen, dan Disgenet sebanyak 3.896 gen.

Pengumpulan database senyawa uji yang diperoleh dari 3 website yaitu Swistarget sebanyak 32, Targetnet sebanyak 618 dan SEA sebanyak 8. Database yang diperoleh dianalisis menggunakan *Software* Cytoscape dan website Metascape diperoleh gen/protein yang paling berperan pada penyakit Kanker Serviks adalah CDK1 (PDB ID: 6GU2). Hasil database senyawa uji dapat dilihat pada **Gambar 4**. CDK1 (*Cyclin Dependent Kinase 1*) berperan dalam transisi dari fase G2 ke fase M. CDK1 membentuk kompleks dengan siklin B disebut M-CDK (*mitotic CDK*) yang sangat penting untuk menginisiasi mitosis. CDK1

memfosforilasi sejumlah protein target yang diperlukan untuk berbagai proses mitosis. CDK1, atau Cyclin-Dependent Kinase 1, memegang peranan krusial dalam regulasi siklus sel, terutama transisi dari fase G2 ke fase Mitosis. Aktivitasnya memastikan bahwa sel siap untuk membelah diri dengan benar, termasuk kondensasi kromosom, pembentukan spindel mitosis, dan pemisahan kromosom yang akurat ke dua sel anak (Enserink & Kolodner, 2010).

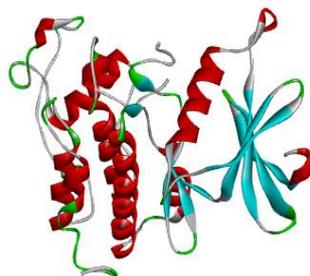
Pada penelitian ini menggunakan *molecular docking* agar dapat mengetahui dan mendeteksi interaksi suatu ligan dengan reseptor, yaitu mendeteksi interaksi dari senyawa *3-Chloro-4-methylaniline* dengan protein *cyclin dependent kinase 1* (CDK1) yang diperoleh dari hasil *network pharmacology*. Teknik molekuler docking ini memiliki potensi dampak yang signifikan terhadap keberhasilan pembuatan obat struktural. Pendekatan ini juga menawarkan keuntungan karena dapat menghemat uang dan waktu saat mencari obat baru. Hasil dari penambatan molekul ini adalah berupa skor penambatan dan hasil visualisasi secara 2D ataupun 3D. Skor penambatan yang dianggap baik adalah skor yang nilainya lebih kecil, karena menggambarkan senyawa yang diuji secara penambatan molekul tersebut akan melekat dengan sangat baik dengan reseptornya dan tidak membutuhkan banyak energi untuk berikatan (de Ruyck *et al.*, 2016).



Gambar 9. Struktur 3D Reseptor Protein CDK1 (PDB ID: 6GU2)

Proses *molecular docking* diawali dengan menyiapkan reseptor dan ligan yang akan digunakan. Pada tahap penyiapan reseptor, struktur makromolekul atau protein yang digunakan diunduh dari PDB (*protein data bank*) dengan alamat situs <https://www.rcsb.org/>. Penelitian ini menggunakan reseptor protein *cyclin dependent kinase 1* (CDK1) dengan kode PDB ID: 6GU2 dan ligan alami, yaitu Flavopiridol seperti pada **Gambar 9**. Protein yang digunakan berupa berkas (*file*) dalam format .pdb. Setelah berkas protein diunduh, dilakukan preparasi protein dengan menggunakan *Biovia Discovery Studio*.

Preparasi protein merupakan tahap awal yang krusial dalam studi penambatan molekul. Struktur protein yang diperoleh dari Protein Data Bank (PDB) umumnya mengandung molekul pelarut, terutama air, serta residu dan ion lain yang terikat. Keberadaan molekul-molekul non-esensial ini perlu dihilangkan untuk menghindari interferensi sterik dan elektrostatik selama simulasi docking, sehingga interaksi yang diamati dapat secara akurat merepresentasikan ikatan antara ligan dan reseptor target. Selain itu, penambahan atom hidrogen dilakukan untuk memastikan representasi muatan dan geometri protein yang sesuai dengan kondisi fisiologis, umumnya pada pH sekitar 7 (Sari *et al.*, 2020).



Gambar 10. Struktur Reseptor Protein CDK1 (PDB ID: 6GU2) Setelah Dipreparasi dan Optimasi

Cyclin dependent kinase 1 (CDK1) (**Gambar 9.**) yang berupa makromolekul protein dipisahkan dari molekul residu pelarut beserta ligan alaminya, yaitu Flavopiridol. Hasil preparasi protein CDK1 dapat dilihat pada **Gambar 10.** dimana menunjukkan bahwa makromolekul protein CDK1 telah terpisah dari molekul residu pelarut dan ligan alaminya. Hasil reseptor protein yang telah dipreparasi tersebut kemudian dioptimasi menggunakan *Autodock 4.2* dan disimpan dengan format *pdbqt*. Selanjutnya persiapan ligan alami (Flavopiridol) dilakukan dengan menambahkan muatan *gasteiger* menggunakan *Autodock 4.2*, kemudian secara otomatis dilakukan pengaturan *merge non polar* sehingga atom H polar saja yang diharapkan akan berinteraksi dengan residu protein. Senyawa ligan alami berfungsi sebagai pembanding untuk senyawa uji.

Penelitian ini menggunakan 1 senyawa hasil LC-MS dari ekstrak etanol tumbuhan *Begonia willemii* sebagai ligan uji. Ligan uji dengan struktur 2D ditransformasikan terlebih dahulu menjadi model struktur 3D menggunakan aplikasi *Chem 3D* dan kemudian diubah menjadi format *.pdb* agar dapat dibaca dengan program *AutodockTools* untuk selanjutnya dilakukan preparasi ligan. Preparasi ligan dilakukan dengan menambahkan muatan *gasteiger*. Muatan *gasteiger* ini akan secara otomatis ditambahkan pada ligan ketika ligan diinput menggunakan *AutodockTools*. Selain itu, pada ligan juga secara otomatis dilakukan pengaturan *merge non polar* sehingga atom H polar saja yang diharapkan akan berinteraksi dengan residu protein. Semua berkas (*file*) ligan kemudian disimpan dengan format *.pdbqt* (Sari *et al.*, 2020).

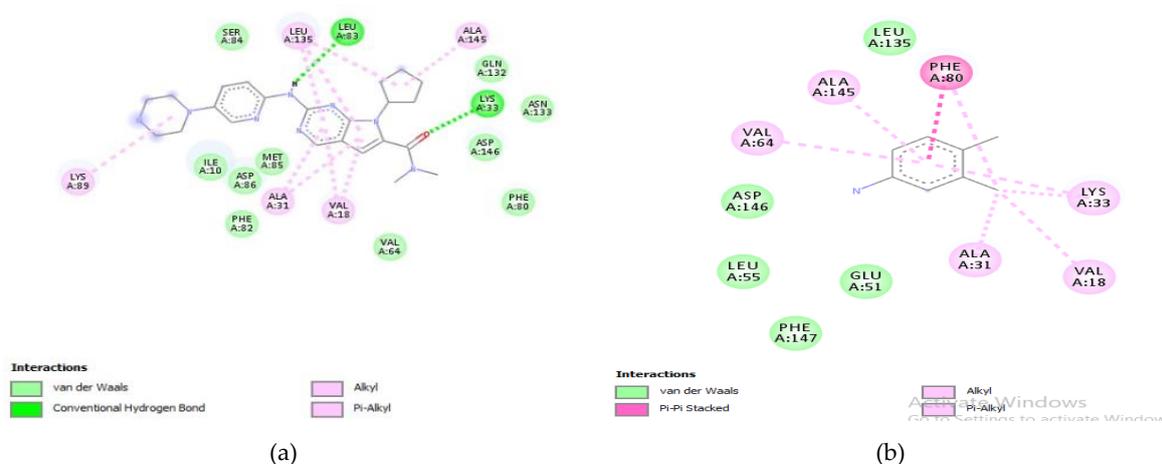
Validasi *molecular docking* dilakukan melalui *redocking* ligan natif (PDB ID: 6GU2) ke dalam struktur protein CDK1 yang telah dipreparasi. Dalam proses validasi *docking*, parameter yang dievaluasi adalah nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD). RMSD merepresentasikan besarnya deviasi spasial antara posisi atom-atom ligan pada struktur kristal (sebelum *docking*) dengan posisi atom-atom ligan setelah proses *docking*. Kriteria validasi *docking* terpenuhi apabila nilai RMSD yang diperoleh $\leq 2 \text{ \AA}$, mengindikasikan bahwa protokol *docking* yang digunakan valid dan dapat diaplikasikan untuk studi *docking* senyawa uji (Sari *et al.*, 2020). Pada ligan natif, optimasi *grid box* menghasilkan dimensi dengan ukuran $x = 40 \text{ \AA}$, $y = 40 \text{ \AA}$, dan $z = 32 \text{ \AA}$. Konfigurasi *grid box* dalam studi *docking* bertujuan untuk mendefinisikan ruang ikatan potensial ligan pada protein target (Pratama *et al.*, 2021). Fungsi utama *grid box* adalah untuk membatasi area reseptor yang dieksplorasi selama proses *docking* berdasarkan koordinat x , y , dan z ligan pembanding, dengan tujuan utama untuk mengidentifikasi konformasi ligan dengan energi terendah (Sari *et al.*, 2020).

Hasil validasi molekuler docking dapat dilihat pada **Tabel 4.** menunjukkan bahwa penambatan ulang (*redocking*) ligan alami (Flavopiridol) dan reseptor protein CDK1 menghasilkan nilai RMSD 1,432 \AA . Hal ini sesuai dengan literatur (Sari *et al.*, 2020) yang mengatakan bahwa nilai RMSD $\leq 2 \text{ \AA}$ menunjukkan bahwa metode docking yang digunakan telah valid dan pengaturan parameter yang digunakan memenuhi kriteria validasi sehingga dapat digunakan untuk tahapan pengujian docking selanjutnya.

Setelah reseptor dan ligan selesai dipreparasi, kemudian dilakukan proses penambatan molekul (*molecular docking*) dengan menggunakan *Autodock 4.2*. Penambatan molekul 1 ligan uji, yaitu Ribociclib (kontrol positif), dan ligan alami (Flavopiridol) dilakukan terhadap makromolekul targetnya, yaitu struktur 3D protein CDK1 (PDB ID: 6GU2) yang telah divalidasi. Hasil penambatan molekul 1 senyawa ligan uji dan Ribociclib (kontrol positif) terhadap reseptor protein CDK1 dapat dilihat pada **Tabel 5.** yang menunjukkan bahwa senyawa ligan uji yaitu *3-Chloro-4-methylaniline* yang memiliki nilai energi ikatan lebih tinggi dibandingkan dengan ligan alami (Flavopiridol) dan Ribociclib (kontrol positif) pada reseptor protein CDK1, yaitu -5,4 kkal/mol yang berarti bahwa afinitas senyawa tersebut lebih lemah dibandingkan dengan *native ligand*. Nilai energi ikatan yang semakin rendah (negatif) menunjukkan afinitas senyawa terhadap protein target semakin kuat sehingga ikatan tersebut menjadi lebih stabil. Oleh karena itu, senyawa *3-Chloro-4-methylaniline* tidak berpotensi untuk dipilih sebagai kandidat antikanker serviks (Frimayanti *et al.*, 2021).

Hasil docking senyawa uji diinterpretasi dengan cara menentukan nilai energi afinitas (*binding energy*), dimana energi afinitas yang lebih rendah menunjukkan stabilitas interaksi obat-reseptor yang lebih tinggi, dan secara prediktif mempunyai tingkat aktivitas biologis yang lebih optimal (Rena *et al.*, 2022) Interaksi molekuler dari senyawa dengan stabilitas yang baik selanjutnya divisualisasikan untuk mengetahui tipe asam amino antara reseptor target dengan senyawa uji.

Visualisasi dan analisis interaksi hasil docking dilakukan untuk melihat hasil penambatan antara ligan perbandingan dan ligan uji yang digunakan. Hasil visualisasi ini berupa interaksi residu asam amino dengan ligan. Adanya interaksi asam amino yang terlibat memungkinkan adanya kontak antara ligan dengan reseptor protein CDK1, sehingga memiliki aktivitas penghambatan (Sari *et al.*, 2020). 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 hidrogen, ikatan hidrofobik, ikatan van der Waals, dan ikatan elektrostatis (Arwansyah *et al.*, 2014). Pada penelitian ini, visualisasi docking dilakukan menggunakan *Biovia Discovery Studio* dan mengacu pada *binding site* ligan alami (Flavopiridol) yang diharapkan senyawa ligan uji ini diprediksikan memiliki interaksi yang sama dengan ligan alami (Flavopiridol), sehingga dapat menghambat reseptor protein CDK1.



Gambar 11. (a) Hasil visualisasi Ribociclib (kontrol positif) dengan protein CDK1 (PDB ID: 6GU2)
(b) Hasil visualisasi senyawa 3-Chloro-4-methylaniline dengan protein CDK1 (PDB ID: 6GU2)

Hasil visualisasi Ribociclib (kontrol positif) dan senyawa ligan uji dengan protein CDK1 (PDB ID: 6GU2) dapat dilihat pada **Gambar 11**, yang memberikan hasil yang beragam dan hasil ikatan dengan residu asam amino ditunjukkan pada **Tabel 6**. Berdasarkan hasil, diperoleh bahwa Ribociclib (kontrol positif) dan senyawa ligan uji tersebut berinteraksi dengan membentuk ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik, dan ikatan van der Waals. Interaksi tersebut menentukan kekuatan antar ligan dan reseptor.

Ikatan hidrogen memiliki peran penting dalam proses molekuler docking yang menjaga stabilitas protein. Ikatan ini berperan penting dalam afinitas dan selektivitas pengikatan antara protein dan ligan. Ikatan hidrogen memiliki kekuatan tertinggi yang menjadi penanda yang kuat untuk ikatan reseptor dan ligan yang stabil (Madushanka *et al.*, 2023). Ikatan hidrofobik, yang melibatkan molekul nonpolar, merupakan jenis interaksi yang tidak memungkinkan terbentuknya ikatan hidrogen dengan air. Walaupun tergolong sebagai interaksi lemah dalam kategori ikatan nonkovalen, interaksi ini memiliki kekuatan yang lebih signifikan dibandingkan dengan ikatan van der Waals. Karena kemampuannya untuk meminimalkan gangguan terhadap struktur air disekitarnya, sehingga meningkatkan stabilitas dan efisiensi pengikatan antara reseptor dan ligan (Arwansyah *et al.*, 2014). Ikatan van der Waals merupakan jenis ikatan antar molekul yang paling lemah, tetapi sering ditemukan di berbagai zat kimia,

khususnya dalam fase gas. Pada kondisi tertentu molekul dapat membentuk dipol, dimana distribusi muatan negatif terkonsentrasi pada satu sisi molekul (Widiastuti, 2019).

Gambar 11. (a) memperlihatkan ikatan hidrogen pada Ribociclib (kontrol positif) yang terbentuk pada residu asam amino Leu83 dan Lys33, ikatan hidrofobik yang terbentuk pada residu asam amino Leu135, Ala145, Ala31 dan Val18, serta ikatan van der Waals terbentuk pada residu asam amino Ser84, Ile10, Met85, Asp86, Phe82, Gln132, Asn133, Asp146, Phe80 dan Val64. **Gambar 11.** (b) memperlihatkan ikatan hidrofobik pada senyawa *3-Chloro-4-methylaniline* yang terbentuk pada residu asam amino Phe80, Ala145, Ala31, Val64, Lys33, dan Val18, serta ikatan van der Waals terbentuk pada residu asam amino Asp146, Leu55, Glu51, dan Phe147.

Hasil interaksi Ribociclib (kontrol positif) dan senyawa *3-Chloro-4-methylaniline* pada reseptor protein CDK1 dengan ligan alami sebagai pembanding, dapat dilihat pada **Tabel 6**. Hasil tersebut menunjukkan bahwa Ribociclib (kontrol positif) dan senyawa *3-Chloro-4-methylaniline* hanya memiliki satu ikatan hidrofobik yang sama dengan ligan alami yaitu Ala31, sehingga menunjukkan bahwa dalam konteks ikatan hidrofobik, reseptor protein CDK1 tidak berinteraksi dengan asam amino yang sama pada senyawa ligan alami. Pada **Tabel 6**, tidak ditemukan adanya kemiripan ikatan van der Waals yang terbentuk antara Ribociclib (kontrol positif) dan senyawa uji *3-Chloro-4-methylaniline* dengan ligan alami. Hal tersebut diduga karena daerah *binding site* memiliki sisi polar yang lebih dominan diketahui dari residu asam amino terlibat. Residu asam amino yang dapat membentuk ikatan van der Waals seperti His41, Met165, dan Gln189 (Ratu *et al.*, 2021).

Berdasarkan hasil interaksi Ribociclib dan senyawa uji *3-Chloro-4-methylaniline* dengan reseptor protein CDK1, dapat disimpulkan bahwa senyawa *3-Chloro-4-methylaniline* menunjukkan profil interaksi yang berbeda secara signifikan dibandingkan dengan ligan alami Flavopiridol dalam menghambat CDK1. Ketidakmampuan senyawa uji untuk meniru pola ikatan hidrogen dan hidrofobik Flavopiridol mengindikasikan mekanisme penghambatan yang berbeda atau bahkan inefektivitas dalam menargetkan residu asam amino krusial pada sisi aktif CDK1 yang berperan penting dalam penghambatan kanker serviks. Penelitian lebih lanjut dapat difokuskan pada modifikasi struktural *3-Chloro-4-methylaniline* untuk meningkatkan afinitas dan spesifisitas terhadap residu asam amino seperti Glu81, Leu83, dan Asp86 yang sering terlibat dalam interaksi dengan inhibitor CDK pada kanker serviks (Wang *et al.*, 2020). Pengembangan senyawa turunan yang mampu membentuk ikatan hidrogen yang stabil dengan residu-residu kunci ini, serta interaksi hidrofobik yang optimal pada kantong pengikatan, berpotensi menghasilkan kandidat obat antikanker serviks yang lebih efektif.

Kesimpulan dan Saran

a. Kesimpulan

1. Analisis LC-MS dari ekstrak etanol *Begonia willemii* terdapat senyawa bioaktif yaitu senyawa *3-Chloro-4-methylaniline*.
2. Protein yang menjadi target potensial dalam pengembangan antikanker serviks berdasarkan *Network pharmacology* dari senyawa kimia *Begonia willemii* adalah protein CDK1 dengan nilai *degree* tertinggi dari 13 protein yaitu 23.
3. Analisis molekuler docking terhadap senyawa *3-Chloro-4-methylaniline* punya energi ikatan lebih tinggi dari ligan alami (Flavopiridol) dan kontrol positif (Ribociclib). Namun, senyawa ini tidak berinteraksi atau berikatan dengan sisi aktif protein CDK1. Artinya, *3-Chloro-4-methylaniline* punya afinitas ikatan lebih rendah dibanding Flavopiridol dan Ribociclib. Jadi, senyawa ini kemungkinan tidak bisa menghambat protein CDK1 pada sel kanker serviks.

b. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dari hasil LC-MS terhadap senyawa yang terkandung dalam tanaman *Begonia willemii* dikarenakan adanya keterbatasan senyawa kimia yang teridentifikasi pada penelitian ini.

Ucapan Terima Kasih

Saya mengucapkan Terima Kasih yang sedalam dan seluas luasnya kepada seluruhnya yang mendukung secara penuh hingga selesainya riset ini terutama kepada pihak Laboratorium Program Studi Farmasi dan Fakultas MIPA Universitas Tadulako.

Daftar Pustaka

- Alseekh, S., Aharoni, A., Brotman, Y., Contrepolis, K., D'Auria, J., Ewald, J., C. Ewald, J., Fraser, P. D., Giavalisco, P., Hall, R. D., Heinemann, M., Link, H., Luo, J., Neumann, S., Nielsen, J., Perez de Souza, L., Saito, K., Sauer, U., Schroeder, F. C., Fernie, A. R. 2021. Mass spectrometry-based metabolomics: a guide for annotation, quantification and best reporting practices. *Nature Methods*, 18(7), 747–756. <https://doi.org/10.1038/s41592-021-01197-1>
- Anam, S., Ritna, A., Dwimurti, F., Rismayanti, D., & Sulaiman Zubair, M. 2014. Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Metanol Benalu Batu (*Begonia* sp.): Ethnomedicine Suku Wana Sulawesi Tengah (Cytotoxic Activity of Benalu Batu (*Begonia* sp.) Methanolic Extract: An Ethnomedicine of Wana Tribe Central Sulawesi). *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 9(1), 10–16.
- Arwansyah, A., Ambarsari, L., & Sumaryada, T. I. 2014. Simulasi *Docking* Senyawa Kurkumin dan Analognya Sebagai Inhibitor Reseptor Androgen pada Kanker Prostat. *Current Biochemistry*, 1(1), 11–19. <https://doi.org/10.29244/cb.1.1.11-19>
- de Ruyck, J., Brysbaert, G., Blossey, R., & Lensink, M. F. 2016. Molecular docking as a popular tool in drug design, an in silico travel. *Advances and Applications in Bioinformatics and Chemistry*, 9(1). <https://doi.org/10.2147/AABC.S105289>
- Enserink, J. M., & Kolodner, R. D. 2010. Open Access REVIEW BioMed Central An overview of Cdk1-controlled targets and processes. *Cell Division*, 5, 11.
- Frimayanti, N., Lukman, A., & Nathania, L. 2021. Studi molecular docking senyawa 1,5-benzothiazepine sebagai inhibitor dengue DEN-2 NS2B/NS3 serine protease. *Chempublish Journal*, 6(1), 54–62. <https://doi.org/10.22437/chp.v6i1.12980>
- Harborne, J. B. (1999). *Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis* (3rd ed.). Chapman & Hall.
- Hidayah, H., Fatmawati, F., Khairunnisa, J., & Putri, M. H. 2023. Aktivitas Triterpenoid Sebagai Senyawa Antikanker. *Journal Of Social Science Research*, 3(2), 10168–10183.
- Hopkins, Andrew, L. 2008. Network Pharmacology: The Next Paradigm In Drug Discovery. *Nature Chemical Biology*, 4, 682–690.
- Ismail, H., Mirza, B., Haq, I. U., Shabbir, M., Akhter, Z., & Basharat, A. 2015. Synthesis, characterization, and pharmacological evaluation of selected aromatic amines. *Journal of Chemistry*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/465286>

- Jose, S., Sivakkumar, T., & Ramprasad, R. 2020. Determination of anti-proliferative effect of methanol extract of Begonia Trichocarpa Dalz leaf on cultured Hela cells. *The Pharma Innovation Journal*, 9(3), 618–621.
- Khairunnisa, P., Ronoatmodjo, S., & Prasetyo, S. 2023. Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Perempuan Melakukan Pemeriksaan Dini Kanker Serviks : A Scoping Review. *Jurnal Epidemiologi Kesehatan Indonesia*, 6(2), 75–80. <https://doi.org/10.7454/epidkkes.v6i2.6256>
- Kuna, Moh. R., & Mappa, Moh. R. 2022. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Metanol Biji Buah Dumbaya (*Momordica cochinchinensis*) Menggunakan Metode Liquid Chromatography- Mass Spectrometry. *Jurnal Farmasi Tinctura*, 3(2), 72–83. <https://doi.org/10.35316/tinctura.v3i2.1950>
- Madushanka, A., Moura, R. T., Verma, N., & Kraka, E. 2023. Quantum Mechanical Assessment of Protein–Ligand Hydrogen Bond Strength Patterns: Insights from Semiempirical Tight-Binding and Local Vibrational Mode Theory. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(7). <https://doi.org/10.3390/ijms24076311>
- Morris, Garrett, M., & Lim-Wilby, M. 2008. *Molecular Docking (In Molecular Modeling of Proteins)*. Humana Press.
- Otuokere, I. E., & Chinweuba, A. J. 2011. Synthesis, Characterization and fungicidal activity of 3-chloro-4-methyl-N-[(1E)-1-phenylethylidene]aniline ligand and its metal complexes. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 3(6), 905–911.
- Pratama, A. B., Herowati, R., & Ansory, H. M. 2021. Studi Docking Molekuler Senyawa Dalam Minyak Atsiri Pala (*Myristica fragrans* H.) Dan Senyawa Turunan Miristisin Terhadap Target Terapi Kanker Kulit. *Majalah Farmaseutik*, 17(2), 233. <https://doi.org/10.22146/farmaseutik.v17i2.59297>
- Pratiwi, L., & Nawangsari, H. 2022. *KANKER SERVIKS (Sudut Pandang Teori dan Penelitian)*. Cv. Jejak.
- Ratu, B. D. P. M., Bodhi, W., Budiarmo, F., Kepel, B. J., Fatimawali, ., & Manampiring, A. 2021. Molecular Docking Senyawa Gingerol dan Zingiberol pada Tanaman Jahe sebagai Penanganan COVID-19. *Jurnal E-Biomedik*, 9(1), 126–130. <https://doi.org/10.35790/ebm.v9i1.32361>
- Rena, S. R., Nurhidayah, N., & Rustan, R. 2022. Analisis Molecular Docking Senyawa Garcinia Mangostana L Sebagai Kandidat Anti SARS-CoV-2. *Jurnal Fisika Unand*, 11(1), 82–88. <https://doi.org/10.25077/jfu.11.1.82-88.2022>
- Saerang, M. F., Edy, H. J., & Siampa, J. P. 2023. FORMULASI SEDIAAN KRIM DENGAN EKSTRAK ETANOL DAUN GEDI HIJAU (*Abelmoschus manihot* L.) TERHADAP *Propionibacterium acnes*. *Pharmacon*, 12(3), 350–357. <https://doi.org/10.35799/pha.12.2023.49075>
- Sari, I. W., Junaidin, & Pratiwi, D. 2020. Indah Wulan Sari, Junaidin, Dina Pratiwi 2020. *Jurnal Farmagazine*, VII(2), 54–60.
- Sobari, E., Ramadhan, M. G., & Destiana, I. D. 2022. Menentukan nilai rendemen pada proses ekstraksi daun murbei (*morus albal*.) dengan pelarut berbeda. *Jurnal Ilmiah Ilmiah Dan Teknologi Rekayasa*, 4(September), 36–41. <https://doi.org/10.31962/jiitr.vvii.66>
- Tandi, J., Paerunan, D. E., Nurifa, N., Kenta, Y. S., & Mulyani, S. 2020. Uji Potensi Ekstrak Daun Benalu Batu (*Begonia* Sp) Terhadap Kadar Glukosa Dalam Darah Dan Gambaran Histopatologi

Pankreas Tikus Putih Jantan (*Rattus Norvegicus*). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 6(2), 286–298.
<https://doi.org/10.51352/jim.v6i2.384>

Wang, Y., Zhang, H., Li, M., Chen, Z., & Liu, F. (2020). Discovery of novel CDK inhibitors for cervical cancer therapy. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 203, 112537.

Wendersteyt, N. V., Wewengkang, D. S., & Abdullah, S. S. 2021. Uji Aktivitas Antimikroba Dari Ekstrak Dan Fraksi Ascidian *Herdmania momus* Dari Perairan Pulau Bangka Likupang Terhadap Pertumbuhan Mikroba *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* Dan *Candida albicans*. *Pharmakon*, 10(1), 706.
<https://doi.org/10.35799/pha.10.2021.32758>

Widiastuti, N. luh G. K. 2019. Pendidikan Sains Terintegrasi Keterkaitan Konsep Ikatan Kimia Dengan Berbagai Bidang Ilmu. *Jurnal Kajian Pendidikan Widya Accarya FKIP Universitas Dwijendra*, 1(1), 3.

Zafrial, R. M., & Amalia, R. 2018. Artikel Tinjauan : Anti Kanker Dari Tanaman Herbal. *Farmaka*, 16(1), 15–23.

Zhang, Z., Cheng, J., Zhou, X., Wu, H., & Zhang, B. 2024. Integrated network pharmacology and molecular docking to investigate the potential mechanism of Tufuling on Alzheimer's disease. *Heliyon*, 10(16), e36471. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e36471>