

Mengungkap Potensi Metabolit Sekunder Tanaman Herbal Indonesia untuk Menghentikan Metastasis Kanker Payudara: Pendekatan *in-silico*

Nur Dina Amalina^{1✉}, Meiny Suzery², Bambang Cahyono², dan Damar Nurwahyu Bima²

¹Prodi Farmasi, Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Negeri Semarang

²Departemen Kimia, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro

Info Artikel

Diterima Juli 2020

Disetujui Agustus 2020

Dipublikasikan November 2020

Keywords:

NF- κ B

kanker payudara

metastasis

senyawa herbal

in silico

Abstrak

Kanker payudara adalah penyakit dengan kasus kematian tertinggi kedua setelah penyakit kardiovaskular. Kemoterapi yang merupakan pilihan utama terapi kanker hingga saat ini terbukti menyebabkan beberapa efek samping berbahaya. Oleh karena itu, ada kebutuhan mendesak untuk mengembangkan terapi berbasis herbal yang efektif untuk membunuh sel kanker dan meminimalkan efek samping. Dalam penelitian ini, bertujuan untuk mengevaluasi interaksi molekuler secara *in silico* beberapa senyawa metabolit sekunder herbal Indonesia dengan indikasi terapeutik untuk pengobatan antikanker. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa semua metabolit sekunder dari *Citrus sp.*, *Curcuma sp.*, *Caesalpinia sappan*, dan *Alpinia galanga* memiliki interaksi yang lebih kuat dengan protein NF- κ B dibandingkan dengan doksorubisin. Interaksi paling kuat adalah senyawa kurkumin yang merupakan metabolit sekunder dari *Curcuma sp.* Namun simulasi awal ini hanyalah langkah awal untuk mengembangkan kombinasi senyawa-senyawa tersebut sebagai agen antikanker yang lebih potensial. Lebih penting lagi bahwa senyawa metabolit sekunder dari *Citrus sp.*, *Curcuma sp.*, *C. sappan*, dan *A. galanga* berpotensi di kembangkan sebagai agen kemoterapi alami dengan mempengaruhi proliferasi sel.

Abstract

Breast cancer is the most frequent cancer among women and the second highest mortality rate after cardiovascular disease. Chemotherapy is first line therapy for breast cancer, has been proven to cause certain harmful side effects. Hence, there is an urgent need to develop effective herbal-based therapies to kill cancer cells and reduce side effects. The objective of this study was to analyze the *in-silico* molecular interactions of many secondary metabolites of Indonesian herbs with therapeutic indications for anticancer treatment. The results of this study indicate that all of secondary metabolites of *Citrus sp.*, *Curcuma sp.*, *Caesalpinia sappan*, dan *Alpinia galanga* have greater interaction with NF- κ B protein compared to doxorubicin. The highest interaction is the curcumin compound, a secondary metabolite of *Curcuma sp.* However, this initial simulation is only the first step towards developing a combination of these compounds as a more potent anticancer agent. It is more important that secondary metabolites from *Citrus sp.*, *Curcuma sp.*, *C. sappan*, and *A. galanga* have the potential to be developed as natural chemotherapy agents by affecting cell proliferation.

© 2020 Universitas Negeri Semarang

✉ Alamat korespondensi:

Gedung D6 Lantai 2 Kampus Sekaran, Gunungpati, Semarang 50229

E-mail: dinaamalina@mail.unnes.ac.id

p-ISSN 2252-6951

e-ISSN 2502-6844

Pendahuluan

Kanker payudara telah menjadi salah satu penyakit paling mematikan nomor dua setelah penyakit kardiovaskuler (WHO, 2018). Dalam beberapa tahun terakhir, terjadinya perkembangan ekonomi dan sosial, serta penuaan populasi menyebabkan insidensi kematian akibat kanker payudara meningkat. Pada tahun 2018 terdapat 8,8 juta kematian akibat kanker payudara, dan merupakan penyumbang 16% kematian di dunia (Bray *et al.*, 2018). Kanker payudara terjadi karena aktivasi onkogen, inaktivasi gen penekan kanker, kehilangan kendali dalam siklus sel, ketidakstabilan genomik, dan resistensi apoptosis. Semua kondisi tersebut diendalikan oleh jalur pensinyalan sel kanker (Cummings *et al.*, 2014; Massard *et al.*, 2006).

Jalur pensinyalan sel adalah proses dimana sel merepon rangsangan molekul pensinyalan ekstraseluler yang mengikat pada membran sel atau di sitoplasma sel. Pengikatan ke reseptor ini mentransfer sinyal ke nucleus dan menginduksi ekspresi gen yang sesuai, sehingga menghasilkan efek biologis dan respon seluler (Vance & Goding, 2004). Dalam tumorigenesis, jalur pensinyalan kurang terkontrol, sehingga menyebabkan regulasi abnormal dan *cross-talk* jalur transduksi sinyal sel yang berperan kunci dalam pertumbuhan kanker. Abnormalitas jalur pensinyalan dapat menyebabkan proliferasi sel yang berlebihan, resistensi apoptosis, angiogenesis, invasi dan metastasis yang mengarah pada keganasan kanker (Evan & Vousden, 2001). *Nuclear Factor Kappa B* (NF- κ B) adalah jalur pensinyalan utama yang terlibat secara ekstensif dalam pertumbuhan dan metastasis kanker (Kawai & Akira, 2007). Selanjutnya, aktivasi konstitutif jalur ini dalam sel epitel menyebabkan peningkatan ekspresi gen *stemness* penanda kekambuhan kanker payudara. Yang lebih penting, adanya gangguan pensinyalan NF- κ B telah terbukti menginduksi metastasis pada kanker payudara (Aggarwal *et al.*, 2019; Chase *et al.*, 2002).

Metastasis merupakan kondisi yang menandakan kanker stadium terminal (Gupta & Massagué, 2006). Kemoterapi merupakan *first line therapy* kanker stadium terminal disamping radiasi. Namun, penggunaan kemoterapi jangka panjang menimbulkan resistensi dan terbukti memperparah kondisi metastasis (Amalina *et al.*, 2017). Maka sangat menjadi penting untuk melakukan eksplorasi senyawa alam yang berpotensi dalam menghambat pertumbuhan kanker dan meminimalkan efek samping. Penanganan kanker semakin luas dengan model *in-silico* yang menggunakan struktur kristal gen pengatur jalur pensinyalan masih menantang untuk menemukan kandidat yang lebih tepat secara efektif dengan efek merugikan yang minimal.

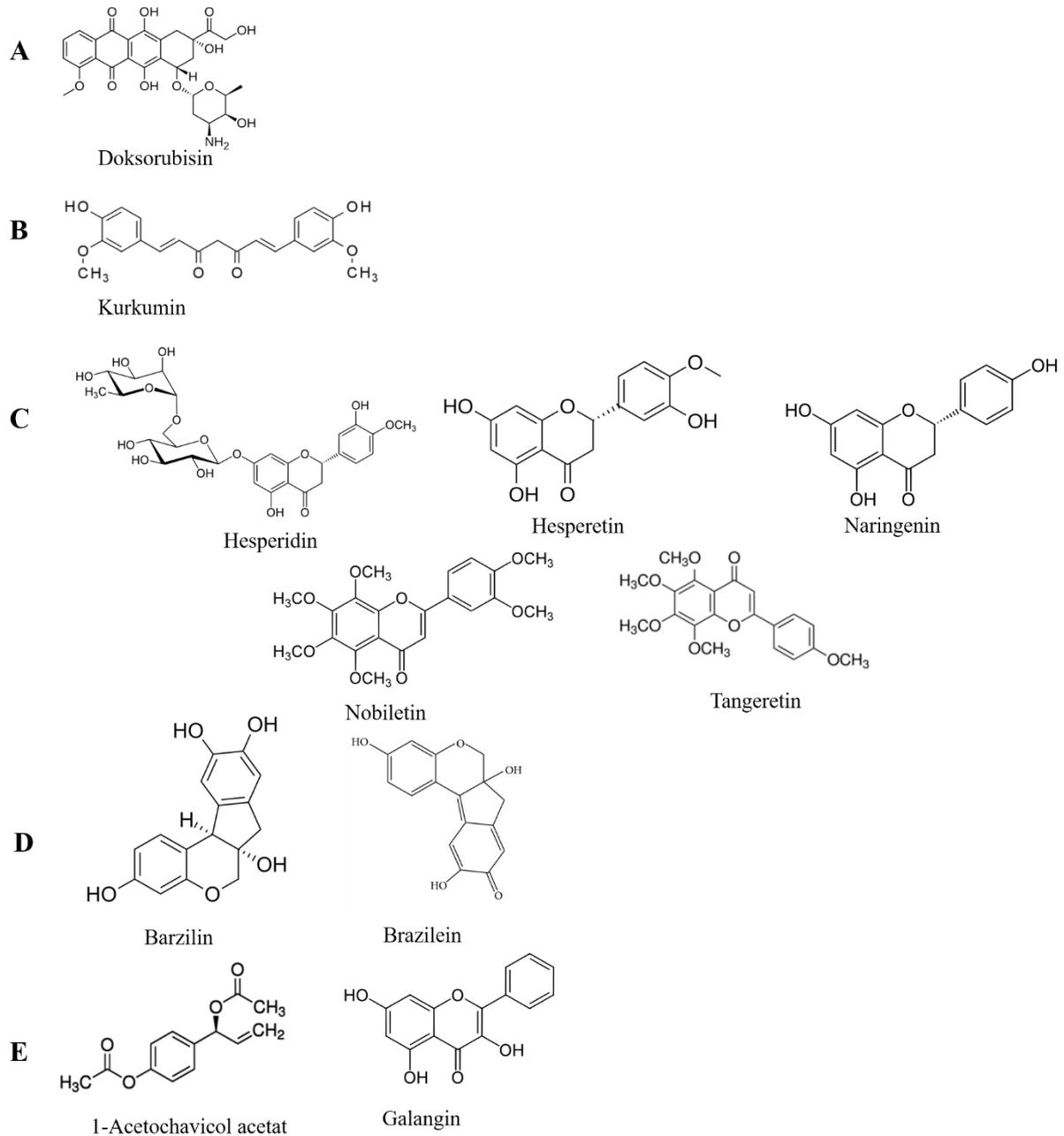
Eksplorasi obat-obatan baru untuk terapi kanker yang memiliki progresifitas cepat bisa menjadi strategi *repurposing* obat untuk melewati langkah praklinis yang biasanya memerlukan pekerjaan dan sumber daya yang melelahkan. Disisi lain, juga di pertimbangkan pengembangan agen yang ada di masa depan bisa lebih mudah dimanfaatkan oleh masyarakat. Untuk tujuan ini, eksplorasi biodiversitas sumber daya alam Indonesia yang sering digunakan adalah pilihan terbaik. Pada penelitian ini, kami melakukan *screening* beberapa senyawa umum dari produk alami yang sudah diketahui bisa dikonsumsi sehari-hari sebagai rempah-rempah yaitu kurkumin senyawa utama *Curcuma sp.*, metoksi flavonoid senyawa utama dari *Citrus sp.*, senyawa fenolik dari *Caesalpinia sappan*, dan fenilpropanoid senyawa dari *Alpinia galanga* untuk dieksplorasi dalam kemampuan mempengaruhi jalur pensinyalan NF- κ B. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan dalam pengembangan kemoterapi bahan alam yang dapat dikonsumsi sehari-hari tanpa timbul efek samping merugikan.

Metode

Studi molecular docking dipilih sebagai alat untuk menscreening afinitas pengikatan beberapa produk bahan alam pada protein pengatur regulasi pertumbuhan kanker payudara NF- κ B. Semua simulasi komputasi dilakukan pada sistem operasi *Windows 10*, *Intel Core i3-10th Gen* sebagai prosesor dengan RAM 8 GB. Studi molecular docking termasuk simulasi docking dan perhitungan RMSD dilakukan dengan menggunakan *Autodock Vina*. Lebih lanjut visualisasi interaksi pengikatan menggunakan *Pyrx*. Model NF- κ B menggunakan struktur kristal dengan PDB ID 4DN5. Struktur kimia dari semua senyawa kimia di peroleh dari *PubChem* dan preparasi senyawa kimia menggunakan *Chemaxon*. Metode *forcefield* digunakan untuk memperbaiki hasil docking dari 30 pengaturan retensi. Hasil dari molecular docking menggambarkan afinitas yang diwakili oleh skor docking dan interaksi pengikatan masing-masing senyawa pada target protein (Sachdeva *et al.*, 2015).

Hasil dan Pembahasan

Di antara senyawa herbal yang biasa digunakan untuk meredakan penyakit, pada penelitian ini dipilih empat jenis tanaman obat Indonesia sebagai sumber konstituen aktif yang akan diteliti potensinya sebagai anti kanker, yaitu kunyit, jeruk, kayu secang dan lengkuas (Gambar 1). Tanaman ini juga diyakini memiliki manfaat meningkatkan sistem kekebalan tubuh.



Gambar 1. Senyawa kimia yang digunakan untuk skrining molecular docking. A. Kemoterapi untuk terapi kanker payudara. B. Senyawa yang terkandung dalam *Curcuma sp.* C. Senyawa kimia yang terkandung dalam *Citrus sp.* D. Senyawa kimia yang terkandung dalam *Caesalpinia sappan*, dan E. Senyawa kimia yang terkandung dalam *Alpinia galanga*. ACA: 1-acetocavicol acetate

Molecular docking dilakukan terhadap protein NF- κ B, yang diyakini berkontribusi dalam proliferasi dan metastasis kanker payudara (Kawai & Akira, 2007). Hasilnya menunjukkan bahwa beberapa senyawa dapat mengikat secara kuat ke reseptor target pada sisi aktif yang diinginkan (Gambar 2). Senyawa-senyawa tersebut memiliki variasi energi ikat D-G (energi Gibbs) yang ditunjukkan dengan skor docking antara senyawa dan reseptor (Tabel 1). Menariknya, pada penelitian ini hampir semua senyawa metabolit sekunder tanaman kecuali tangeretin memiliki afinitas pengikatan yang lebih baik terhadap reseptor NF- κ B dibandingkan dengan kemoterapi dokсорubisin. Afinitas pengikatan yang lebih tinggi ditandainya dengan nilai energi semakin negatif menandakan aktivitas penghambatan jalur pensinyalan yang signifikan (Utomo *et al.*, 2020).

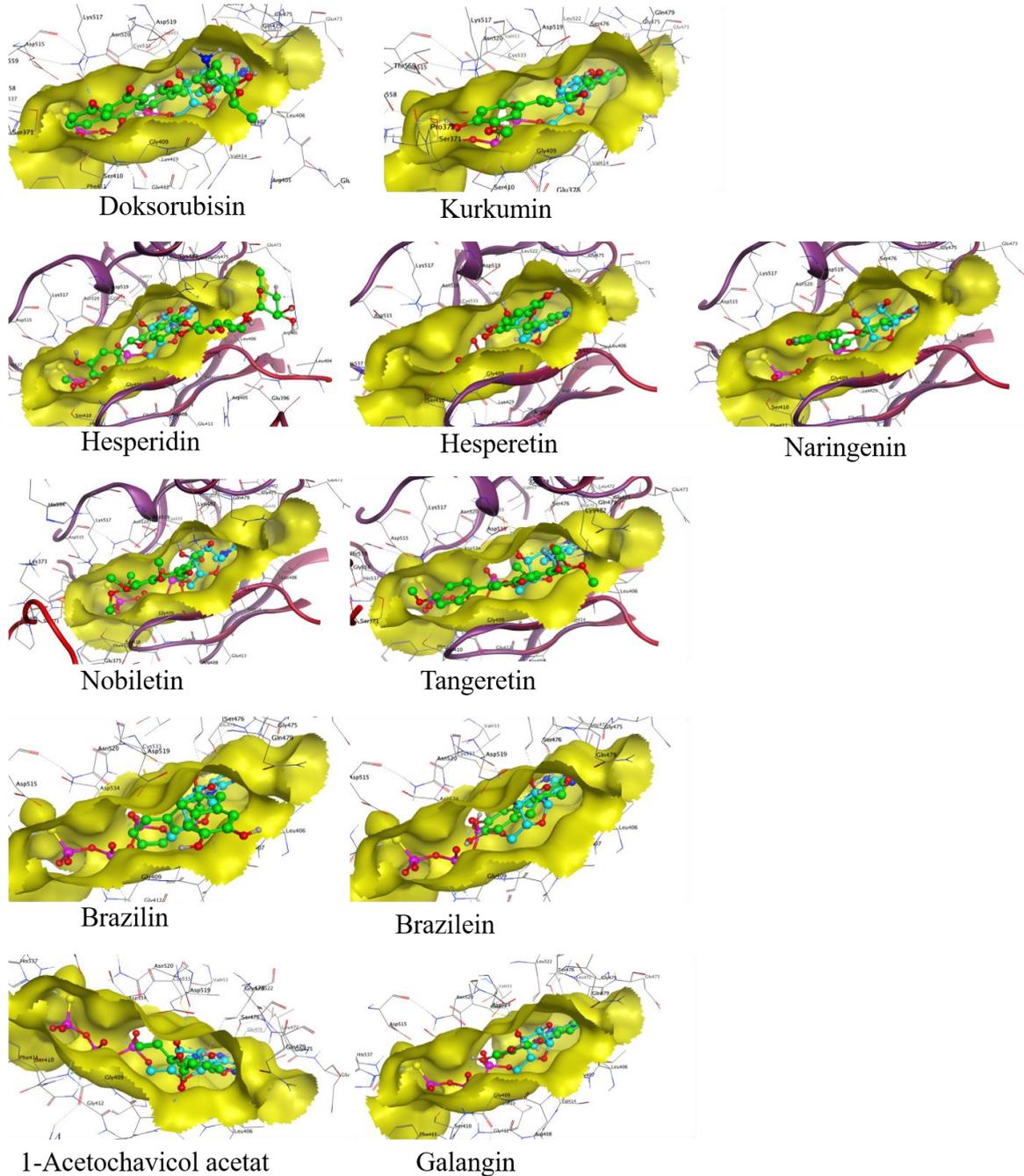
Tabel 1. Skor docking senyawa metabolit sekunder bahan alam terhadap protein NF- κ B

Tanaman	Ligan	Energi Gibbs (kcal/mol)	RMSD
-	Doksoresubisin	-16.2666	1.3159
<i>Curcuma sp.</i>	Kurkumin	-22.6827	1.0976
<i>Citrus sp.</i>	Hesperidin	-21.4766	1.9867
	Hesperetin	-17.7885	1.1908
	Naringenin	-20.4094	0.9867
	Nobiletin	-21.1435	1.2344
	Tangeretin	-13.1224	1.2470
<i>Caesalpinia sappan</i>	Brazilin	-12.5624	1.8295
	Brazilein	-19.7922	1.5208
<i>Alpinia galanga</i>	ACA	-17.0803	1.6587
	Galangin	-17.7934	1.7407

Diantara flavonoid jeruk dan kunyit, hesperidin dan kurkumin, masing-masing menunjukkan ikatan energi terendah dengan skor docking -21.4766 dan -22.6827 terhadap reseptor NF- κ B. Skor docking hesperidin terhadap NF- κ B menunjukkan skor yang lebih rendah dari doksoresubisin. Berdasarkan penemuan ini menunjukkan bahwa hesperidin memiliki interaksi yang lebih baik dengan NF- κ B dibandingkan dengan doksoresubisin.

Pada permodelan molekuler docking ini juga menunjukkan bahwa brazilin, brazilein senyawa yang ditemukan pada kayu secang dan galangin maupun ACA dari lengkuas, memiliki ikatan yang lebih rendah dibandingkan senyawa kimia yang digunakan untuk terapi pilihan pertama. Temuan ini menunjukkan bahwa senyawa-senyawa tersebut memiliki sifat yang lebih baik dan dapat menghambat proliferasi dan metastasis kanker payudara. Penelitian sebelumnya mengungkapkan bahwa hesperidin terbukti menghambat proliferasi kanker payudara melalui induksi apoptosis dan siklus sel (Febriansah *et al.*, 2014). Senyawa kurkumin juga terbukti menghambat pertumbuhan sel kanker darah melalui induksi *reactive oxygen species* (ROS) dan induksi *senescence* (Larasati *et al.*, 2018).

Semua data ini merupakan efek penghambatan potensial dari *Citrus sp.*, *Curcuma sp.*, *C. sappan*, dan *A. galanga* pada perkembangan kanker payudara, dimana hasil penelitian ini mungkin ditujukan untuk pengobatan dan pencegahan metastasis kanker payudara. Berdasarkan skor docking konstituen *Curcuma sp.* menunjukkan potensi yang terbaik, diikuti oleh *Citrus sp.*, *A. galanga* dan *C. sappan*. Penelitian sebelumnya mendukung data penelitian ini, bahwa kurkumin dan brazilein memiliki aktivitas antikanker terhadap beberapa jenis kanker (Larasati *et al.*, 2018; Utomo *et al.*, 2020). Berdasarkan hasil ini, seluruh senyawa metabolit sekunder dari *Citrus sp.*, *Curcuma sp.*, *C. sappan*, dan *A. galanga* berpotensi dikembangkan sebagai agen kemoterapi alami dengan mempengaruhi proliferasi sel melalui interaksi dengan NF- κ B.



Gambar 2. Profil interaksi ikatan senyawa metabolit sekunder bahan alam Indonesia terhadap protein NF-κB

Simpulan

Berdasarkan hasil dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa senyawa metabolit sekunder dari *Citrus sp.*, *Curcuma sp.*, *C. sappan*, dan *A.galanga* berpotensi di kembangkan sebagai agen kemoterapi alami dengan mempengaruhi proliferasi sel melalui interaksi dengan NF-κB.

Daftar Pustaka

- Aggarwal, V., Tuli, H.S., Varol, A., Thakral, F., Yerer, M.B., Sak, K., Varol, M., Jain, A., Khan, M.A., & Sethi, G. 2019. Role of Reactive Oxygen Species in Cancer Progression: Molecular Mechanisms and Recent Advancements. *Biomolecules*, 9 (11)
- Amalina, N., Nurhayati, I.P., & Meiyanto, E. 2017. Doxorubicin Induces Lamellipodia Formation and Cell Migration. *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention*, 8 (2): 61-67

- Bray, F., Ferlay, J., & Soerjomataram, I. 2018. *Global Cancer Statistics 2018: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries*. 394–424
- Chase, A.J., Bond, M., Crook, M.F., & Newby, A.C. 2002. Role of Nuclear Factor- κ B Activation in Metalloproteinase-1, -3, and -9 Secretion by Human Macrophages *in vitro* and Rabbit Foam Cells Produced *in vivo*. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 22(5): 765–771
- Cummings, M.C., Simpson, P.T., Reid, L.E., Jayanthan, J., Skerman, J., Song, S., McCart Reed, A.E., Kutasovic, J.R., Morey, A.L., Marquart, L., O'Rourke, P., & Lakhani, S.R. 2014. Metastatic Progression of Breast Cancer: Insights from 50 Years of Autopsies. *Journal of Pathology*, 232(1): 23–31
- Febriansah, R., Putri, D.D.P., Sarmoko, Nurulita, N.A., Meiyanto, E., & Nugroho, A.E. 2014. Hesperidin as a Preventive Resistance Agent in MCF-7 Breast Cancer Cells Line Resistance to Doxorubicin. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(3): 228–233
- Gupta, G.P., & Massagué, J. 2006. Cancer Metastasis: Building a Framework. *Cell*, 127(4): 679–695
- I. Evan, G., & H. Vousden, K. 2001. Proliferation, Cell Cycle and Apoptosis in Cancer. *Nature*, 411(May): 342–348
- Kawai, T., & Akira, S. 2007. Signaling to NF- κ B by Toll-like Receptors. *Trends in Molecular Medicine*, 13(11): 460–469
- Larasati, Y.A., Yoneda-Kato, N., Nakamae, I., Yokoyama, T., Meiyanto, E., & Kato, J.Y. 2018. Curcumin Targets Multiple Enzymes Involved in the ROS Metabolic Pathway to Suppress Tumor Cell Growth. *Scientific Reports*, 8(1): 1–13
- Massard, C., Deutsch, E., & Soria, J.C. 2006. Tumour Stem Cell-Targeted Treatment: Elimination or Differentiation. *Annals of Oncology*, 17(11): 1620–1624
- Sachdeva, S., Bhatia, S., Mittal, A., & Sinha, M. 2015. Synthesis, Evaluation and *in Silico* Studies of 1,8-Naphthyridine Derivatives Against Antimicrobial Activity. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(7): 53–59
- Utomo, R.Y., Ikawati, M., & Meiyanto, E. 2020. Revealing the Potency of Citrus and Galangal Constituents to Halt SARS-CoV-2 Infection. *Preprints.Org*, 2(March): 1–8
- Vance, K.W., & Goding, C.R. 2004. The Transcription Network Regulating Melanocyte Development and Melanoma. *Pigment Cell Research*, 17(4): 318–325
- WHO. 2018. *Latest Global Cancer Data: Cancer Burden Rises to 18.1 Million New Cases and 9.6 Million Cancer Deaths in 2018*. September, 13–15.