

**POTENSI SENYAWA *INDOLE-3-CARBINOL* DAUN KALE (*BRASSICA OLERACEA L*) TERHADAP KANKER SERVIKS TERTARGET PROTEIN IGF2BP2 DAN MYCBP**

**SKRIPSI**



**UMSU**

Unggul | Cerdas | Terpercaya

Oleh:

**Farhan Abdullah Rizal**

**2008260198**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA**

**2023**

**POTENSI SENYAWA *INDOLE-3-CARBINOL* DAUN KALE (*BRASSICA OLERACEA L*) TERHADAP KANKER SERVIKS TERTARGET PROTEIN IGF2BP2 DAN MYCBP**

**Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh  
Kelulusan Sarjana Kedokteran**



**UMSU**  
Unggul | Cerdas | Terpercaya

**Oleh:**

**Farhan Abdullah Rizal**

**2008260198**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA**

**2023**

## HALAMAN PERSETUJUAN



MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI, PENELITIAN & PENGEMBANGAN  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA  
**FAKULTAS KEDOKTERAN**  
Jalan Gedung Arca No. 53 Medan 20217 Telp. (061) 7350163 – 7333162 Ext.  
20 Fax. (061) 7363488  
Website : [fk@umsu@ac.id](mailto:fk@umsu@ac.id)

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

## LEMBAR PERSETUJUAN PEMBIMBING

Nama : Farhan Abdullah Rizl  
NPM : 2008260198  
Prodi/Bagian : Pendidikan Dokter  
Judul Skripsi : Hubungan Pemberian Indole-3-Carbinol Daun Kale  
(Brassica Oleracea L) Terhadap Efek Warburg Kanker  
Serviks

Disetujui untuk disampaikan kepada panitia ujian

Medan, 27 Juli 2023

Pembimbing,

(Dr. dr. Humairah Medina Liza Lubis, M.Ked (PA), Sp. PA)

NIDN:0115077401

Unggul | Cerdas | Percaya



MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI, PENELITIAN & PENGEMBANGAN  
**UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN**

Jalan Gedung Arca No. 53 Medan 20217 Telp. (061) 7350163 – 7333162 Ext. 20 Fax. (061) 7363488  
 Website : [www.umsu.ac.id](http://www.umsu.ac.id) E-mail : rektor@umsu.ac.id  
 Bankir : Bank Syariah Mandiri, Bank Bukopin, Bank Mandiri, Bank BNI 1946, Bank Sumut.

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ  
**HALAMAN PENGESAHAN**

**Skripsi Ini Diajukan Oleh**

Nama : Farhan Abdullah Rizal  
 NPM : 2008260198  
 Judul Skripsi : POTENSI SENYAWA *INDOLE-3-CARBINOL* DAUN KALE (*BRASSICA OLERACEA L*) TERHADAP KANKER SERVIKS TERTARGET PROTEIN IGF2BP2 DAN MYCBP

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

**DEWAN PENGUJI**  
 Pembimbing

(Assoc. Prof. Dr. dr. Humairah Medina Liza Lubis, M.Ked. PA., Sp.PA.)

Penguji 1

(dr. Siti Mirhalina Hasibuan, Sp.PA)

Penguji 2

(dr. Zukhrofi Muzar, M.Si. Med., M.Sc., Ph.D)



(dr. Siti Mashana Siregar, Sp. THT-KL(K))  
 NIDN: 0106098201

Mengetahui

Ketua Program Studi Pendidikan  
 Dokter FK UMSU

(dr. Desi Isnayanti, M.Pd.Ked)  
 NIDN: 0112098605

Ditetapkan di : **MEDAN**

Tanggal : **18 JANUARI 2024**

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertanda tangan dibawah ini menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Farhan Abdullah Rizal

NPM : 2008260198

Judul Skripsi : **Potensi Senyawa *Indole-3-Carbinol* Daun Kale (*Brassica oleracea L*)  
Terhadap Kejadian Kanker Serviks Tertarget Protein IGF2BP2 dan MYCBP**

Demikian pernyataan ini saya perbuat, unruk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Medan, 18 Januari 2024



(Farhan Abdullah Rizal)

## KATA PENGANTAR

*Assalamu 'alaikum warahmatullahi wabarakatuh*

Puji dan syukur saya ucapkan ke hadirat Allah Subhanahu Wata'ala atas segala limpahan nikmat dan karunia-Nya, sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran pada Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara. Saya sepenuhnya menyadari bahwa tanpa adanya dukungan, bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak, sangatlah sulit bagi saya untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, saya mengucapkan terima kasih kepada:

1. Mama saya yang sangat amat saya cintai dan sayangi, dr. Laumida Sukmawati yang telah melahirkan saya kedunia ini, selalu mendukung, mendoakan dan selalu menjadi support system bagi penulis untuk menyelesaikan ini semua serta selalu bisa menjadi tempat keluh kesah bagi penulis untuk menjalani hidup ini. Terimakasih penulis ucapkan kepada papa kandung penulis, Almarhum Ir. Afrizal serta papa sambung penulis Agus Chudorie.
2. Abang saya Almarhum Faisal Aulia Rizal yang telah memotivasi penulis untuk masuk kuliah kedokteran. Serta adik saya Fikri Rahman Rizal yang menjadi motivasi penulis untuk tetap bertahan didunia perkuliahan ini.
3. dr. Siti Masliana Siregar, Sp. THT-KL(K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara. Dr. dr. Nurfadhly, M.KT selaku Wakil Dekan 1 Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara. dr. Muhammad Edy Syahputra Nasution, M.Ked (ORL-HNS), Sp. THT-KL selaku Wakil Dekan 3 Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
4. Assoc. Prof. Dr. dr. Humairah Medina Liza Lubis, M.Ked(PA),Sp.PA selaku dosen pembimbing penulis yang selalu bersedia meluangkan waktu dan tenaga beliau untuk membimbing dan mengarahkan selama penelitian ini. Beliau juga selalu mendengarkan segala keluh kesah penulis selama menyelesaikan skripsi ini. Semoga ilmu yang beliau berikan menjadi amal dan bermanfaat bagi semua orang.
5. dr. Siti Masliana Siregar, Sp.PA selaku dosen penguji 1 peneliti yang telah memberikan saran dan arahan dalam penyusunan skripsi ini.
6. dr. Zukhrofi Muzar, M.Si.Med.,M.Sc.,Ph.D selaku dosen penguji 2 peneliti yang telah memberikan saran dan arahan dalam penyusunan skripsi ini.
7. Diri saya sendiri yang telah mampu dan kuat untuk menyelesaikan skripsi ini, telah mampu tetap bertahan untuk tetap hidup.

8. Immanuelle Kezia, S.Si., M.Biomed yang telah mengajarkan peneliti dalam melakukan molecular docking.
9. Dandi Dzaki Muzhaffar beserta keluarga yang telah banyak membantu penulis menyelesaikan skripsi ini baik secara langsung maupun tidak langsung.
10. Kabinet Pergerakan SEMA FK UMSU telah menjadi salah satu bagian dari diri penulis yang membanggakan bagi penulis.
11. Keluarga, teman dan kerabat yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu, yang telah memberikan bantuan baik secara langsung maupun tidak langsung.

Dalam penulisan skripsi ini, penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dan kesalahan. Oleh karena itu, penulis menerima segala bentuk kritik maupun saran untuk perbaikan di masa yang akan datang.

Akhir kata, saya berharap kepada Allah Subhanahu Wata'ala berkenan membalas kebaikan semua pihak yang telah membantu saya baik secara moral, materi dan ilmu yang sangat bermanfaat bagi saya dan semoga skripsi ini memberikan manfaat bagi orang banyak serta pengembangan ilmu yang pengetahuan.

*Wassalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh*

Yang menyatakan,

(Farhan Abdullah Rizal)

**HALAMAN PERNYATAAN PUBLIKASI**

Sebagai sivitas akademika Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, saya yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Farhan Abdullah Rizal

NPM : 2008260198

Fakultas : Kedokteran

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara Hak Bebas Royalti Noneksklusif atas skripsi saya yang berjudul: **Potensi Senyawa Indole-3-Carbinol Daun Kale (*Brassica oleracea* L.) Terhadap Kanker Serviks Tertarget Protein IGF2BP2 dan MYCBP.** beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Medan

Pada tanggal : 18 Januari 2024

Yang menyatakan,

(Farhan Abdullah Rizal)



## ABSTRAK

**Latar Belakang:** Kanker serviks adalah keganasan yang terjadi pada bagian serviks dari organ rahim. Sampai saat ini kanker serviks masih banyak terjadi bahkan jumlah kejadiannya terus meningkat signifikan di dunia dan Indonesia. Metabolic reprogramming karena mutasi onkogenik memegang peranan penting dalam tumorigenesis kanker serviks. Aktivitas pengangkut glukosa dan enzim merupakan faktor timbulnya efek Warburg yang mendukung meningkatnya kadar glukosa dan laktat di lingkungan mikro tumor, sehingga mempromosikan proliferasi sel kanker. Salah satu protein yang berperan pada jalur ini adalah IGF2BP2 dan MYCBP yang dapat mempromosikan perkembangan kanker. Riset ini menggunakan produk alam yaitu Daun Kale (*Brassica oleracea* L) yang mengandung senyawa Indole-3-Carbinol yang memiliki efek anti-kanker dengan memengaruhi berbagai jalur pensinyalan seluler, **Metode:** Penelitian ini menggunakan uji in siliko dengan molecular docking dari senyawa Indole-3-Carbinol Daun Kale dengan target protein IGF2BP2 dan MYCBP dengan control positif obat konvensional kanker yaitu 5-Fluorouracil dan Doxorubicin. **Hasil:** Nilai  $\Delta G$  (Gibbs Energy) untuk Indole-3-Carbinol, doxorubicin, dan 5-fluorouracil adalah -5.75, -4.45, dan -6.90 kkal/mol. Sedangkan nilai  $pK_i$  masing 61.23, 549.10, dan 8.72  $\mu M$ . Dari hasil di atas, dengan menggunakan simulasi molekuler, kami menemukan bahwa Indole-3-Carbinol memiliki afinitas pengikatan yang lebih besar dibandingkan 5-fluorouracil. **Kesimpulan:** senyawa Indole-3-Carbinol daun Kale memiliki potensi yang baik sebagai kandidat obat antikanker serviks, dengan tertarget protein IGF2BP2.

**Kata kunci:** Kanker Serviks, IGF2BP2, MYCBP, Indole-3-Carbinol, Daun Kale, Efek Warburg, In Siliko

## ABSTRACT

**Background:** Cervical cancer is a malignancy that occurs in the cervical part of the uterine organ. Until now, cervical cancer is still common and the number of cases continues to increase significantly in the world and Indonesia. Metabolic reprogramming due to oncogenic drugs plays an important role in cervical cancer tumorigenesis. The activity of glucose transporters and enzymes is a factor in the emergence of the Warburg effect which supports an increase in glucose and lactate levels in the tumor microenvironment, thereby encouraging cancer cell proliferation. One of the proteins that plays a role in this pathway is IGF2BP2 and MYCBP which can increase cancer development. This research uses a natural product, namely Kale Leaves (*Brassica oleracea* L) which contains the Indole-3-Carbinol compound which has anti-cancer effects by influencing various cellular signaling pathways.

**Method:** This research uses an *in silico* test with molecular docking of the Indole-3 compound -Kale Leaf Carbinol targets IGF2BP2 and MYCBP proteins with positive controls for conventional cancer drugs, namely 5-Fluorouracil and Doxorubicin. **Results:**  $\Delta G$  (Gibbs Energy) values for Indole-3-Carbinol, doxorubicin, and 5-fluorouracil were -5.75, -4.45, and -6.90 kcal/mol. Meanwhile, the  $pK_i$  values were 61.23, 549.10, and 8.72  $\mu M$  respectively. From the results above, using molecular simulations, we found that Indole-3-Carbinol has a greater binding affinity than 5-fluorouracil. **Conclusion:** Kale leaf Indole-3-Carbinol compound has good potential as a candidate for cervical anticancer drugs. with the targeted protein IGF2BP2.

**Keywords:** Cervical Cancer, IGF2BP2, MYCBP, Indole-3-Carbinol, Kale Leaves, Warburg Effect, *In Silico*

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN SAMPUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN .....</b>	<b>iii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b>v</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS .....</b>	<b>iv</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>vi</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN PUBLIKASI .....</b>	<b>vii</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>ix</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>xi</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xvi</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN.....</b>	<b>xvii</b>
<b>BABI.....</b>	<b>1</b>
<b>PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
<i>1.1. Latar Belakang.....</i>	<i>1</i>
<i>1.2. Rumusan Masalah.....</i>	<i>3</i>
<i>1.3. Tujuan Masalah .....</i>	<i>3</i>
1.3.1 Tujuan Umum .....	3
1.3.2 Tujuan Khusus .....	3
<i>1.4. Manfaat Penelitian.....</i>	<i>4</i>
1.4.1. Bidang Penelitian.....	4
1.4.2. Bagi Pendidikan .....	4
1.4.3. Bagi Peneliti.....	4
<b>BAB II .....</b>	<b>5</b>
<b>TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
<i>2.1. serviks uteri.....</i>	<i>5</i>
2.1.1. Anatomi Serviks Uteri .....	5
2.1.2. Histologi Serviks Uteri .....	6

2.2.	<i>Kanker Serviks</i> .....	7
2.2.1.	Epidemiologi Kanker Serviks .....	7
2.2.2.	Faktor Risiko kanker Serviks .....	8
2.2.3.	Etiologi Kanker Serviks .....	9
2.2.5.	Diagnosis Kanker Serviks .....	10
2.2.6.	Stadium Kanker Serviks .....	11
2.3.	<i>Metabolisme Pada Kanker</i> .....	13
2.3.1.	Repograming Metabolisme Laklat .....	14
2.3.2.	Mekanisme Reprograming Metabolisme Glukosa .....	14
2.3.3.	Repograming Metabolisme Laklat .....	15
2.4.	<i>Modulasi Efek Warburg</i> .....	16
2.5.	<i>Daun Kale (Brassica oleracea L)</i> .....	17
2.6.	<i>Kerja Indole-3-Carbinol Dalam Modulasi Efek Warburg</i> .....	18
2.7.	<i>Ekspresi Protein Pada Sel Kanker Serviks</i> .....	19
2.7.1.	Ekspresi Protein IGF2BP2 .....	19
2.7.2.	Ekspresi Protein MYCBP .....	20
2.8.	<i>Peran Protein Dalam Mempengaruhi Warburg</i> .....	20
2.8.1.	Peran protein IGF2BP2 Dalam Mempengaruhi Glikolisis .....	20
2.8.2.	Peran Protein MYCBP Dalam Mempengaruhi Glikolisis .....	21
2.9.	<i>Kerangka Teori</i> .....	22
2.10.	<i>Kerangka Konsep</i> .....	23
2.11.	<i>Hipotesis</i> .....	23
	<b>BABIII METODE PENELITIAN</b> .....	<b>24</b>
3.1	<i>Definisi Operasional</i> .....	24
3.2	<i>Jenis Penelitian</i> .....	24
3.3	<i>Waktu Dan Tempat Penelitian</i> .....	24
3.4.	<i>Populasi Dan Sampel Penelitia</i> .....	25
3.4.1	Populasi Penelitian .....	25
3.4.2.	Sampel Penelitian .....	25
3.5	<i>Teknik Pengumpulan Data</i> .....	25

3.5.1 <i>Bahan</i> .....	25
3.5.2. <i>Alat</i> .....	25
3.6. <i>Analisis Data</i> .....	25
3.6.1. Analisis in siliko .....	25
3.7. <i>Metode Analisis Data</i> .....	26
3.7.1. Analisis Data.....	26
3.8. <i>Alur Penelitian</i> .....	27
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>28</b>
4.1. <i>Hasil Penelitian</i> .....	28
4.1.1 Identifikasi Tanaman Daun Kale .....	28
4.1.2. Pencairan Struktur Senyawa Indole-3-Carbinol Daun Kale .....	28
4.1.3. Pencarian Struktur Protein IGF2BP2.....	29
4.1.4 Pencarian Struktur Protein MYBCP .....	29
4.1.5. Molecular Docking Ligan <i>Indole-3-Carbinol</i> dengan Protein IGF2BP2 .....	30
4.1.6. Molecular Docking Ligan MYBCP dengan Protein IGF2BP2 .....	34
4.1.7. Druglines.....	37
4.1.8. Prekdisi ADME.....	38
4.2. Pembahasan .....	40
<b>BABV KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>44</b>
5.1. <i>Kesimpulan</i> .....	44
5.2 <i>Saran</i> .....	44
<b>REFERENSI.....</b>	<b>45</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>51</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Stadium Kanker Serviks berdasarkan FIGO (2018) .....	11
Tabel 3.1. Defenisi Operasional.....	24
Tabel 4.1. Residu Asam Amino IGF2BP29(Q9Y6MI) Pada Senyawa Indole-3 Carbinol .....	32
Tabel 4.2. Residu Asam Amino IGF2BP2(Q9Y6MI) Pada Senyawa 5-Fluorouracil .....	32
Tabel 4.3. Residu Asam Amino IGF2BP29(Q9Y6MI) Pada Senyawa Doxorubicin .....	33
Tabel 4.4. Residu Asam Amino MYCBPQ99317 Pada Senyawa -3-Carbinol .....	36
Tabel 4.5. Residu Asam Amino MYCBPQ995417 pada Senyawa 5-Fluorouracil .....	36
Tabel 4.6. Residu Asam Amino MYBCPQ99417 pada Senyawa Doxorubicin .....	36
Tabel 4.7. Druglikeness .....	37
Tabel 4.8. Uji Farmakokinetik .....	38
Tabel 4.9. Uji Toksisitas .....	38
Tabel 4.10. Binding Enrgy protein IGF2BP2 .....	39
Tabel 4.11. Binding Energy Protein IGF2BP2 .....	39
Tabel 4.11. Binding Enegy Protein MYCBP .....	39

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Anatomi Serviks.....	5
Gambar2.2. Suplay Darah Arteri .....	6
Gambar 2.3. Histologi Serviks.....	7
Gambar2.4 Jumlah Kanker wanita Indonesia .....	8
Gambar2.5 Stadium Kanker FIGO 2018 .....	13
Gambar2.6 Mekanisme Reprograming Metabolisme Glukosa.....	15
Gambar 2.9 Skema Perbedaan Antara Fosforilasi Oksidatif .....	16
Gambar 2.10. Daun Kale ( <i>Brassica oleracea L.</i> ).....	18
Gambar2.11. Struktur Kimia Indole-3-Carbinol.....	18
Gambar2.12 Diagram Skematik Indole -3-Carbinol dalam Kanker Hati .....	19
Gambar 2.13. Efek pleiotropik ekspresi MYBCP .....	22
Gambar 4.1. Struktur 2D.....	28
Gambar4.2. Struktur Protein IGF2BP2.....	29
Gambar4.5. Visualisasi 2D Indole-3-Carbinol dengan igf2bp2 .....	31
Gambar4.6. Visualisasi 2D 5-Fluorouracil dengan IGF2BP2 .....	31
Gambar4.7. Visualisasi 2D Doxorubicin Dengan IGF2BP2 .....	32
Gambar4.8. Visualisasi 3D protein IGF2BP2.....	33
Gambar4.9. Visualisasi 2D Indole -3-Carbinol dengan IGF2BP .....	34
Gambar 4.10. Visualisasi 2D 5-Fluorouracil dengan MYCBP .....	35
Gambar 4.11. Visualisasi 2D Doxorubicin dengan MYBCP .....	35
Gambar 4.12. Visualisasi 3D Protein MYBCP.....	37

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar belakang

Kanker serviks adalah kanker ganas yang terjadi pada lapisan epitel serviks. Kanker serviks menempati urutan keempat di antara semua tumor ganas di seluruh dunia. Jumlah kasus baru kanker serviks diperkirakan meningkat dari 570.000 menjadi 700.000 kasus setiap tahunnya antara tahun 2018 dan 2030, dan jumlah kematian tahunan dari 311.000 menjadi 400.000 kasus.<sup>1</sup> Di Indonesia, menurut data Global Burden of Cancer Study 2020, kasus kanker serviks menjadi penyebab kanker nomor dua dengan total kasus sebanyak 36.633 kasus. Berdasarkan data tersebut, kanker serviks merupakan kanker terbanyak kedua di Indonesia setelah kanker payudara dan juga penyebab kematian akibat kanker terbanyak ketiga dengan 21.003 kematian.<sup>2</sup>

Human papillomavirus (HPV) risiko tinggi, dengan tipe genotipe HPV 16 dan 18 yang menghasilkan protein E6 dan E7, adalah penyebab paling umum kanker serviks, terutama dengan menginfeksi keratinosit basal skuamosa yang berdiferensiasi buruk dan memicu tumorigenesis. Infeksi HPV mengubah metabolisme sel tumor, mengarah ke immunosupresi dan immunoprevensi, mengarah ke promosi tumorigenesis (mutasi onkogenik), sebagaimana dibuktikan dengan peningkatan ekspresi protein E6 dan E7, yang mempromosikan inaktivasi protein pemicu tumor penekan p53 dan pRb. dimana sel membelah tak terkendali (abadi). Onkoprotein ini juga mencegah apoptosis, meningkatkan ketidakstabilan genom, mencegah pemendekan telomer, meningkatkan terjadinya angiogenesis dan memfasilitasi invasi dan metastasis.<sup>3</sup> Perubahan fenotipe metabolik adalah salah satu tanda lingkungan mikro pasca infeksi. Lingkungan mikro setelah infeksi HPV secara aktif mengontrol aktivitas metabolisme sel tumor, yang merupakan faktor kunci dalam penyebaran HPV dan perkembangan kanker serviks.<sup>4</sup>

Pada tahun 1920 Otto Warburg menemukan bahwa sel kanker mengambil glukosa lebih besar. Sel kanker dapat menghasilkan energi dengan cara reaksi tanpa oksigen (glikolisis aerobik) sehingga menyebabkan disfungsi dari mitokondria dimana hal ini menyebabkan glukosa yang di ambil akan jauh lebih banyak menghasilkan asam laktat, peningkatan asam laktat dalam jumlah yang banyak akan terjadi penggabungan biomassa, setelah penggabungan biomassa akan berlanjut sebagai proliferasi tidak terkontrol sel kanker, fenomena inilah yang disebut sebagai efek Warburg.<sup>5</sup>

Pemrograman ulang metabolik karena mutasi onkogenik memainkan peran penting



dalam tumorigenesis beberapa jenis kanker, termasuk kanker serviks. Aktivitas transporter glukosa dan enzim merupakan faktor dalam menghasilkan efek Warburg, yang mendukung peningkatan glukosa dan laktat di lingkungan mikro tumor, yang mendorong proliferasi sel kanker. Efek Warburg sangat meningkatkan metabolisme glikolisis, menghasilkan pelepasan oksigen dan laktat yang melimpah. Sel kanker sangat bergantung pada glikolisis aerobik sehingga pembentukan laktat dari glukosa dapat terjadi 10-100 kali lebih cepat daripada oksidasi lengkap glukosa di mitokondria dalam kondisi normal.<sup>6</sup> Sel kanker juga mengatur jalur mitokondria di lingkungan mikro tumor, meningkatkan resistensi apoptosis dan kelangsungan hidup sel kanker.<sup>7</sup>

Salah satu protein yang terlibat dalam jalur pensinyalan ini adalah Insulin-like growth factor-2 mRNA binding proteins (IGF2BPs) dan MYCBP dapat mempromosikan perkembangan kanker dengan menstabilkan mRNA termetilasi dan meningkatkan proliferasi sel tumor.<sup>4</sup> Penelitian ini akan meneliti efek fitokimia antikanker bersama dengan produk alami dan patogenesis kanker serviks melalui jalur IGF2BP2 dan MYCBP.

Penelitian ini menggunakan daun Kale (*Brassica oleracea* L) yang kaya akan glukosinolat dan produk hidrolisis terkait yang meliputi senyawa *Indole-3-carbinol* (I3C) yang dapat berfungsi sebagai penghambat efek Warburg dan meregulasi energi seluler untuk menekan pertumbuhan dari sel kanker, sehingga sel kanker tidak dapat berproliferasi.<sup>8</sup> Studi epidemiologis menunjukkan bahwa daun Kale (*Brassica oleracea* L) ini dapat melindungi manusia dari kanker seperti kolorektal, paru, payudara serta kanker prostat.<sup>9</sup>

*Indole-3-carbinol* (I3C) adalah produk alami yang terkandung dalam sayuran milik keluarga *Brassicaceae*. Banyak penelitian menunjukkan bahwa I3C menekan proliferasi berbagai sel kanker, termasuk sel kanker payudara, usus besar, prostat, dan endometrium. Salah satu contoh sifat anti-proliferatifnya berasal dari penelitian yang dilakukan pada sel epitel payudara non-tumorigenik dan tumorigenik (masing-masing MCF10A dan MCF10CA1a), yang menunjukkan bahwa I3C menginduksi apoptosis pada sel kanker payudara tetapi tidak pada epitel payudara non-tumorigenik. I3C dan salah satu produk reaksinya, *diindolylmethane* (DIM), terlibat dalam induksi enzim detoksifikasi fase 1, yang dapat mengakibatkan pemecahan karsinogen makanan lainnya. Studi *in situ* dan *in vivo* menunjukkan peran I3C sebagai agen kemoprotektif pada kanker payudara dan prostat.<sup>10</sup>

Banyaknya kegagalan yang diamati dalam pengobatan kanker serviks, hal ini sangat

menarik perhatian periset untuk melakukan kajian-kajian dari jalur pensinyalan seluler. Terapi yang melibatkan inhibitor spesifik yang menargetkan satu jalur, tidak dapat mengobati kanker dalam kasus-kasus tertentu. Namun, beberapa cara alami dengan memanfaatkan senyawa yang tersedia, termasuk *Indole-3-Carbinol* yang dapat menghambat kanker manusia dengan memengaruhi berbagai jalur pensinyalan seluler, dan karenanya dapat didefinisikan sebagai agen multi target. Penelitian yang telah dilakukan oleh Biersack pada 2020 membuktikan bahwa *Indole-3-Carbinol* adalah senyawa yang berguna untuk mengatasi resistensi obat kanker dan tumor metastatik.<sup>11</sup>

Metode yang dilakukan pada penelitian ini adalah menggunakan analisis in siliko. Setelah senyawa daun Kale (*Brassica oleracea L*) diidentifikasi, selanjutnya dilakukan analisis in siliko untuk menginvestigasi molecular docking dengan protein ligan.

Efek fitokimia dari daun Kale (*Brassica oleracea L*) sebagai pemodulasi efek Warburg sangat minim efek samping karena tujuan penggunaannya sebagai imunoterapi yang tertuju langsung pada sel target kanker dibandingkan dengan metode terapi lain seperti radioterapi dan kemoterapi. Dengan demikian, salah satu tujuan dari riset adalah untuk menganalisis efek anti kanker *Indole-3-Carbinol* pada kanker serviks dengan menurunkan kadar intake glukosa efek warburg dengan fokus pada pensinyalan IGF2BP2 dan *MYCBP*.

## **1.2. Rumusan Masalah**

Apakah ada potensi senyawa *Indole-3-Carbinol* Daun Kale (*Brassica oleracea L*) terhadap kanker serviks tertarget protein IGF2BP2 dan *MYCBP* ?

## **1.3. Tujuan Penelitian**

### **1.3.1. Tujuan Umum**

Tujuan umum penelitian ini adalah menjelaskan adanya potensi senyawa *Indole-3-Carbinol* Daun Kale (*Brassica oleracea L*) kejadian kanker serviks tertarget protein IGF2BP2 dan *MYCBP*.

### **1.3.2. Tujuan Khusus**

1. Mempelajari mekanisme interaksi in siliko (molecular docking) antara senyawa golongan *Indole-3-carbinol* terhadap protein IGF2BP2.
2. Mempelajari mekanisme interaksi in siliko (molecular docking) antara senyawa golongan *Indole-3-carbinol* terhadap protein *MYCBP*.

## **1.4. Manfaat Penelitian**

### **1.4.1. Bidang Penelitian**

1. Terungkapnya senyawa golongan *Indole-3-carbinol* dari daun Kale (*Brassica oleracea L*) serta peranannya sebagai antikanker serviks.
2. Menjadi literasi dan pijakan pada riset selanjutnya yang mengarah kepada penemuan antikanker dengan memanfaatkan ekstrak senyawa *Indole-3-carbinol* dari daun Kale (*Brassica oleracea L*).
3. Hasil penelitian diharapkan dapat menyediakan data bagi peneliti lain yang ingin melakukan penelitian di bidang yang sama.

### **1.4.2. Bagi Pendidikan**

Hasil penelitian diharapkan dapat menjadi sumber informasi yang dapat dimanfaatkan untuk mengembangkan ilmu pengetahuan yang dapat berkaitan dengan potensi senyawa *Indole-3-Carbinol* Daun Kale (*Brassica oleracea L*) kejadian kanker serviks tertarget protein IGF2BP2 dan MYCBP.

### **1.4.3. Bagi Peneliti**

Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan wawasan dan pengetahuan yang luas serta dapat mengaplikasikannya, memberikan pengalaman yang berharga bagi peneliti dalam memperluas dalam keterampilan untuk melakukan uji molecular docking.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1. Serviks Uteri

##### 2.1.1. Anatomi Serviks Uteri

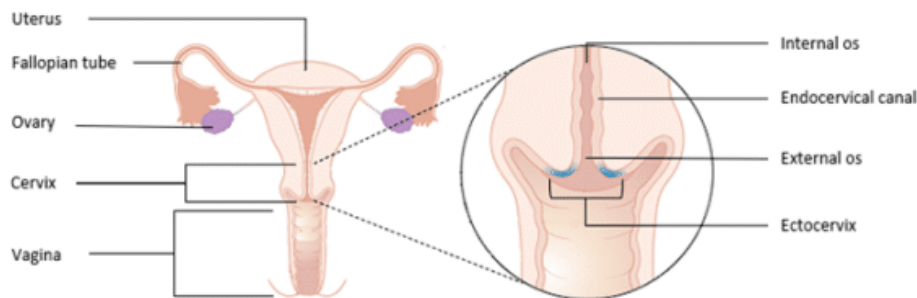
Serviks uteri merupakan bagian paling distal dari organ uterus (rahim) atau biasanya disebut bagian leher daripada uterus (leher rahim). Serviks berada setinggi dengan bagian dari atas plica vesico - uterina. Bagian belakang serviks tertutup oleh peritoneum sedangkan bagian lateral serviks terhubung dengan pelvis dari ligamentum kardinal. Serviks uteri memiliki ukuran berkisar antara 2-3 cm dan berakhir pada istmus atau segmen bawah organ uterus paling proksimal. Serviks pula merupakan bagian penghubung antara corpus uteri dengan vagina. Paling ujung serviks terdapat struktur seperti kubah yang masuk kedalam vagina dan forniks lalu terhubung pada bagian dinding vagina di sekitaran tepi dari serviks. serviks terdiri dari dua bagian yaitu endoserviks dan ektoserviks.<sup>12</sup>

##### 1. Endoserviks / Kanalis Servikalis

Endoserviks adalah bagian paling proksimal dan merupakan bagian dalam daripada serviks. Bagian kanal serviks disebut juga sebagai kanalis servikalis. Endoserviks dilapisi oleh pelapis epitel kolumnal sederhana yang berfungsi menghasilkan lendir. Ujung kanalis serviks terdapat penyempitan serta bagian terbuka yang dikenal sebagai ostium uteri internum (OUI)

##### 2. Ektoserviks

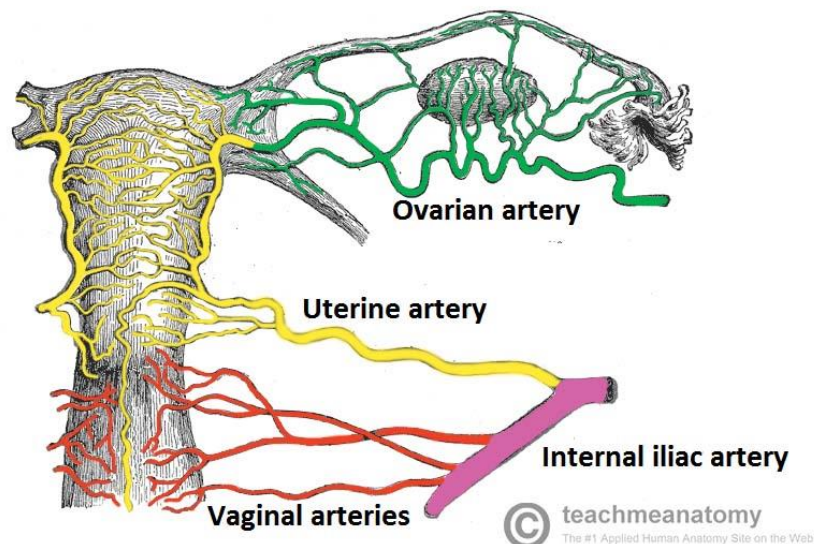
Ektoserviks adalah penonjolan yang terdapat dalam vagina. Ektoserviks dilapisi epitel skuamosa non-keratin. Bagian yang terbuka pada ektoserviks disebut juga sebagai ostium uteri eksternum (OUE).



Gambar 2.1 Anatomi Serviks.<sup>13</sup>

Serviks dan uterus mendapatkan pasokan darah dari arteri uterine yang berasal

dari cabang arteri iliaca interna. Mendapatkan pula dari arteri vaginal cabang dari arteri uterus. Terdapat pembuluh darah vena melalui plexus venosus uterine mengalirkan darah ke vena iliaca interna. Plexus venosus uterin beranastomosis dengan vena rectalis superior, di sisi bagian bawah dari struktur excavatio recto uterina / cavum douglassis. Drainase limfatik dari serviks uteri melewati nodus limfatika di iliaca, sacrum dan inguinal.<sup>12</sup>



Gambar 2.2 Suplai Darah Arteri.<sup>14</sup>

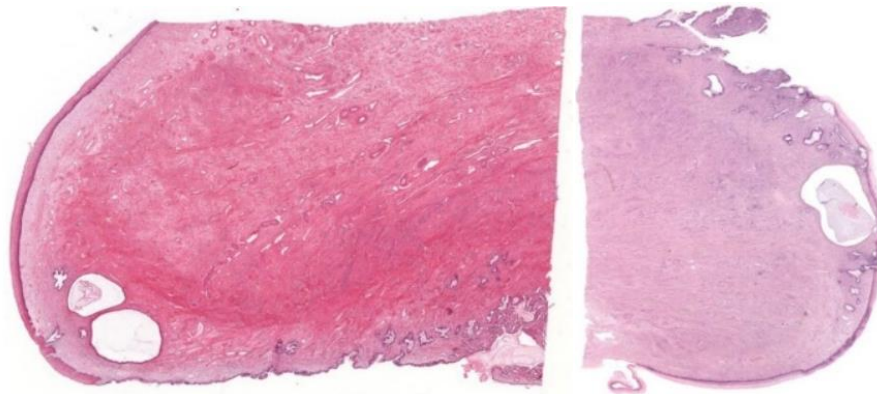
### 2.1.2. Histologi Serviks Uteri

Bagian serviks lebih di didominasi oleh jaringan ikat dan hanya terdapat sekitar 10% dari otot polos. Hal ini berbeda dengan bagian - bagian uterus lain yang dimana di didominasi dengan otot polos dibandingkan jaringan ikat. Dinding serviks tersusun dari jaringan ikat padat yang banyak mengandung serat kolagen dan elastin.<sup>12</sup>

Ektoserviks dilapisi dengan epitel skuamosa bertingkat, yang tidak terkeratinisasi. Estrogen dapat meningkatkan penyimpanan glikogen di lapisan tengah dan atas epitel. Ada beberapa bagian yang menunjukkan kelenjar serviks yang mirip dengan penonjolan serviks. Bagian endoservik dilapisi dengan epitel kolumnar sederhana. Banyak kelenjar dengan selaput lendir menembus 2-3 mm ke dalam dinding serviks, memungkinkan bagian endoserviks ini mengeluarkan lendir. Kelenjar serviks adalah bentuk bercabang dari sel penghasil lendir yang terletak di lamina propria. Diantara ektoserviks dan endoserviks terdapat suatu zona yang disebut sebagai zona transformasi yaitu daerah transisi antara dua endoserviks dan ektoserviks. Transformation zone ini sering disebut sebagai

squamocolumnar junction yang dianggap sebagai tempat utama dari infeksi HPV.

1516



Gambar 2.3 Histologi Serviks.<sup>16</sup>

## 2.2. Kanker Serviks

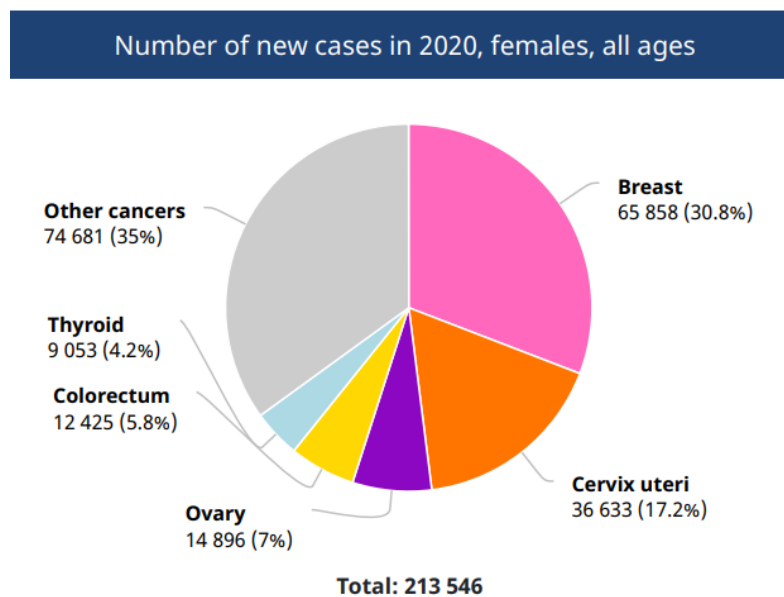
Kanker serviks merupakan keganasan pada leher rahim yaitu bagian paling distal dari uterus yang menonjol ke ujung liang vagina.<sup>17</sup> Kanker serviks terbagi menjadi 2 yaitu CSCC : cervical squamous cell carcinomas yaitu berasal dari sel skuamosa dan adenocarcinoma cervical berasal dari sel glandular serviks. Keganasan pada serviks bermula muncul dari epitel serviks yang normal melalui perkembangan secara progresif dari lesi intraepitel serviks dimana HPV menjadi penyebab utama.<sup>18</sup>

### 2.2.1. Epidemiologi Kanker Serviks

Kanker serviks menempati peringkat ke empat di antara kanker keganasan penyebab kematian pada wanita di seluruh dunia versi WHO. Jumlah kasus kanker serviks setiap tahun bertambah jumlahnya, diperkirakan jumlah kasus meningkat dari 570.000 menjadi 700.000 kasus setiap tahunnya antara tahun 2018 hingga 2030. Jumlah kematian yang diakibatkan kanker serviks pula diperkirakan naik dari 311.000 kasus menjadi 400.000 kasus.<sup>1</sup> Global Burden of Cancer (GLOBOCAN) menjadikan kanker serviks pada urutan ke-2 sebagai kasus kanker baru terbanyak pada tahun 2020 dan menempati urutan ke-3 sebagai penyebab kematian karna keganasan oleh wanita.<sup>19</sup>

Berdasarkan data Global Burden of Cancer Study 2020, kasus kanker serviks di indonesia menjadi penyebab kanker nomor dua terbanyak setelah kanker payudara dengan total kasus sebanyak 36.633 kasus dan juga penyebab kematian akibat kanker terbanyak ketiga dengan total 21.003 kasus kematian dengan 9% kematian yang disebabkan kanker di indonesia.<sup>2</sup> Data dari Badan Registrasi

Kanker Ikatan Dokter Ahli Patologi Indonesia (IAPI), menunjukkan bahwa kanker leher serviks menduduki peringkat pertama dengan jumlah (17,2%) dari seluruh kasus kanker, lalu diikuti kanker payudara dengan jumlah (12,2%).<sup>20</sup> Data prevalensi kasus kanker serviks berdasarkan provinsi di Indonesia pada tahun 2017 menunjukkan provinsi papua barat menduduki posisi pertama tingkat kasus terbanyak, lalu disusul dengan provinsi maluku utara dan Gorontalo. Sedangkan provinsi dengan tingkat kasus kanker serviks terendah pada provinsi Kalimantan timur lalu diikuti provinsi sumatera utara dan Sumatera selatan.<sup>21</sup>



Gambar 2.4 Jumlah kanker wanita indonesia.<sup>2</sup>

### 2.2.2. Faktor risiko kanker serviks

Banyak sekali faktor risiko seseorang dapat terkena kanker serviks. Dilansir dari kementerian kesehatan 2019 ada beberapa yang dapat menjadi faktor risiko diantaranya nya wanita yang menikah atau berhubungan seksual di usia muda, pernah mengalami infeksi kelamin atau panggal, memiliki banyak pasangan seks atau berganti ganti pasangan. wanita yang telah melahirkan banyak anak, serta wanita perokok pasif.<sup>17</sup>

Melakukan hubungan seksual dibawah 18 tahun akan meningkatkan risiko terkena kanker serviks hingga dua kali lipat. Melakukan hubungan seksual dengan lebih dari satu pasangan juga dapat meningkatkan risiko terkena kanker serviks hingga dua kali lipat. Wanita yang telah melahirkan banyak anak melalui pervaginam diketahui dapat meningkatkan risiko terkena kanker serviks. Merokok pula berkontribusi aktif terhadap risiko seseorang terkena kanker serviks. Zat

sampingan tembakau dapat menghancurkan sel DNA di serviks, yang dapat berkontribusi pada perkembangan kanker serviks, wanita yang merokok akan lebih berisiko terkena kanker serviks dibanding wanita yang tidak merokok. Seorang perokok mungkin memiliki sistem kekebalan tubuh yang lemah untuk melawan infeksi HPV, sehingga meningkatkan kemungkinan perkembangan dari infeksi HPV menjadi keganasan pada serviks. Pernah mengalami infeksi kelamin seperti klamida dan herpes genitalia diketahui meningkatkan risiko terinfeksi HPV 16. Penggunaan kontrasepsi oral dalam jangka waktu yang lama juga diketahui dapat meningkatkan seseorang terinfeksi kanker serviks. Diketahui wanita yang telah mengkonsumsi kontrasepsi oral dalam jangka waktu yang lama >5 tahun meningkatkan risiko 1,9 kali lipat terkena kanker serviks.<sup>22</sup>

### **2.2.3. Etiologi Kanker Serviks**

Etiologi paling sering dari kanker serviks adalah Human Papillomavirus (HPV).<sup>22</sup> Hampir 95% kanker serviks disebabkan oleh infeksi HPV. Jenis HPV paling banyak menginfeksi adalah HPV-16 dan HPV 18. HPV-16 menginfeksi hampir 50% total penyebab kanker serviks. Sedangkan HPV-18 sendiri mencapai angka 10 - 15% penyebab kanker serviks. HPV terbagi dua yaitu HPV risiko tinggi (Onkogenik) dan HPV risiko rendah (non-onkogenik). HPV risiko tinggi terdiri dari HPV-16, HPV-18, HPV-31, HPV-33, HPV-35, HPV-39, HPV-45, HPV-51, HPV-52, HPV-56, HPV-58, HPV-59, HPV-68, HPV-69 dan 82. Sedangkan HPV risiko rendah terdiri dari HPV-6, HPV-11, HPV-40, HPV-42, HPV-43, HPV-44, HPV-54, HPV-61, HPV-72 dan HPV-81.<sup>23</sup>

### **2.2.4. Patogenesis Kanker Serviks**

Human Papillomavirus dapat masuk ke epitel sel serviks melalui lesi yang terdapat pada serviks. Bagian pada basal ini mengandung sel yang belum matang dan akan terus berproliferasi. Pada saat sel epitel basal matang, replikasi dari HPV meningkat dan gen E6 dan E7 yang mengkode protein dari kanker akan meningkat. Pada tahap ini mulai terjadi perubahan yang secara abnormal pada sel yang mengarah pada kegagalan apoptosis. Ketika sudah terjadi kegagalan apoptosis maka sel kanker akan terus berproliferasi tidak terkendali sehingga membuat keganasan pada sel kanker.<sup>22</sup> Integrasi ini akan menyebabkan peningkatan ekspresi dari protein E6 dan protein E7. Kedua protein ini akan menghalangi regulasi siklus sel dengan cara mengikat dan melemahkan atau



mematikan dua protein supresor tumor yaitu protein p53 dan retinoblastoma (pRb).<sup>24</sup>

E6 memediasi degradasi penekan tumor p53, dan E7 dapat membentuk kompleks dengan penekan tumor retinoblastoma pRB. Kedua oprotein ini bekerja sama dalam menghalangi kontrol anti-proliferasi sel. Onkoprotein virus HPV E6 dan E7 memainkan peran penting dalam mendorong sel menuju onkogenesis. Dalam proses replikasi genom virus, mereka dapat menginduksi banyak keunggulan untuk sel kanker yaitu proliferasi seluler yang tidak terkendali, angiogenesis, invasi, metastasis, dan aktivitas telomerase yang tidak terbatas bersama dengan penghindaran apoptosis dan aktivitas penekan pertumbuhan. Hambatan ini akan menurunkan imun dan virus terus berkembang, yang berujung kegagalan apoptosis serta proliferasi yang tidak terkendali.<sup>24,25</sup>

### 2.2.5. Diagnosis Kanker Serviks

#### a) Pemeriksaan Pap Smear

Pada tahun 1920, Dr. George Papinicolao menemukan untuk membedakan sel serviks normal dan sel ganas dapat dilakukan dengan pemeriksaan hapusan secret vagina yang dioleskan pada kaca objek dilihat pada mikroskop, metode inilah yang di kenal sebagai Pemeriksaan Pap Smear. Hingga saat ini pemeriksaan pap smear digunakan sebagai alat skrining kanker serviks wanita sedari usia 21 tahun.<sup>26</sup>

#### b) Kolposkopi

Kolposkopi adalah pemeriksaan menggunakan alat yang disebut colposcope, alat tersebut dimasukan kedalam vagina sebagai visualisasi. Kedalam serviks diberikan larutan asam asetat sebanyak 30% selama 60 – 90 detik. Larutan ini berguna untuk menghidrasi sel sehingga sel – sel skuamosa dengan inti besar dan padat (sel yang terinfeksi HPV) akan memantulkan cahaya berwarna putih, atau yang disebut sebagai “acetowhite”.<sup>26</sup>

#### c) Biopsi

Biopsi adalah prosedur pemeriksaan yaitu mengambil sampel jaringan pada serviks lalu di periksa dibawah mikroskop. Sampel jaringan yang dapat diambil bisa dari endoserviks ataupun ektoserviks. Ada beberapa

metode biopsi yang dapat dilakukan yaitu ; Biopsi punch adalah prosedur di mangambil sepotong jaringan kecil dikeluarkan menggunakan instrumen, terkadang dapat mengambil dari beberapa area. Kuretase endoserviks adalah prosedur pengambilan jaringan menggunakan kuret dan hanya mengambil sejumlah kecil jaringan. Loop electrosurgical excision procedure (LEEP) adalah prosedur menggunakan loop lingkaran kawat tipis yang tedapat arus listrik untuk menghilangkan area abnormal pada serviks.<sup>2728</sup>

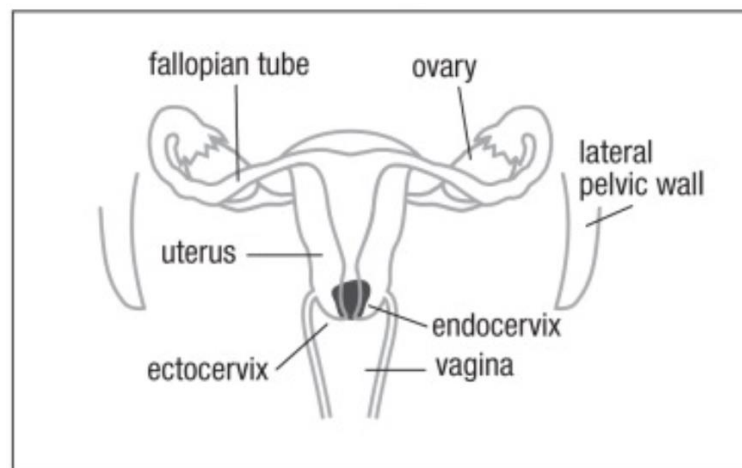
### 2.2.6. Stadium Kanker Serviks

Untuk menentukan stadium/stage kanker serviks dapat menggunakan international Federation of Gynecology and Obstetrics (FIGO). Secara garis besar terdapat 4 stadium dalam kanker serviks yang diuraikan sebagai berikut ;<sup>29</sup>

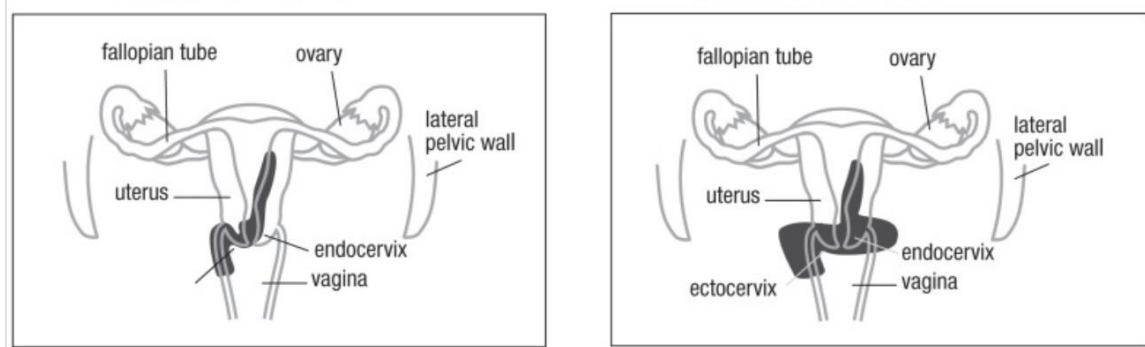
Tabel 2.1 Stadium kanker serviks berdasarkan FIGO (2018)

Stage	keterangan
I	Sel kanker telah menginvasi serviks dan penyebaran terbatas pada rahim
IA	Karsinoma telah menginvasif, tetapi hanya terbatas pada leher rahim, dapat didiagnosis hanya dengan mikroskop.
IA1	Invasi sel kanker karsinoma dengan kedalaman $\leq 3$ sampai dengan $\leq 7$ mm dengan penyebaran horizontal.
IA2	Invasi sel kanker karsinoma dengan kedalaman $\leq 5$ sampai dengan $\leq 7$ mm dengan penyebaran horizontal.
IB	Tumor lebih besar tetapi masih terbatas pada leher rahim
IB1	Terdapat lesi mikroskopis $>IA2$ atau lesi tumor yang terlihat secara klinis $\leq 4$ cm dengan kedalaman 7mm.
IB2	Terdapat lesi mikroskopis $>IA2$ atau lesi tumor yang terlihat secara klinis $>4$ cm dengan kedalaman 7mm.
II	Penyebaran sel kanker telah mencapai pada area di luar rahim teteapi masih didalam area panggul terdekat seperti vagina dan jaringan terdekat serviks.
IIA	Ekstensi dari tumor di luar serviks ke vagina tetapi tidak sampai ke sepertiga bagian bawah vagina. Tidak terdapat invasi parametrial.

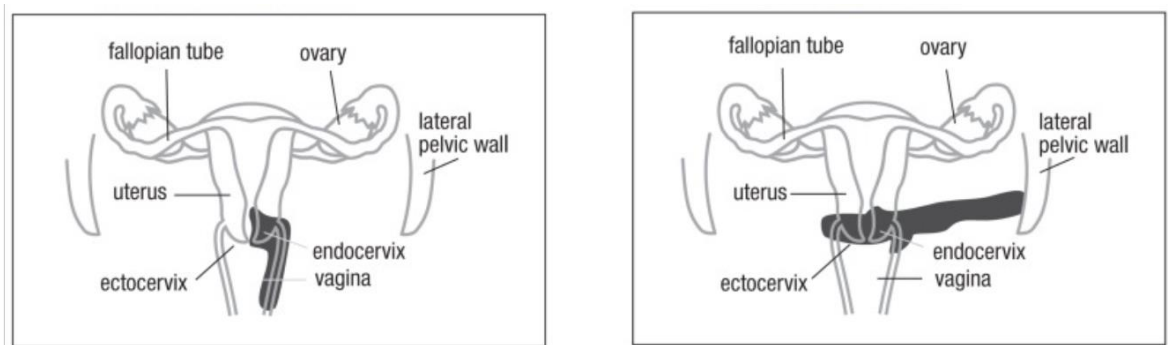
IIA1	Terdapat tumor <4cm.
IIA2	Terdapat tumor >4cm.
IIB	Ekstensi dari tumor di luar serviks. Invasi telah menapai parametrial tetapi tidak sampai ke dinding sisi panggul dan tidak sampai ke sepertiga bagian bawah dari vagina.
III	Tumor telah mencapai dari sepertiga bagian bawah vagina serta dan atau disertai penyebaran ke bagian dari dinding panggul; dapat menyebabkan pembengkakan ginjal, seperti hidronefrosis; menghentikan fungsi ginjal; dan/atau serta melibatkan kelenjar getah bening regional.
IIIA	Ekstensi dari tumor ke bagian sepertiga bagian bawah vagina dan atau tidak disertai penyebaran ke dinding sisi panggul.
IIB	Ekstensi daari tumor ke bagian dinding sisi panggul dan menyebabkan hidronefrosis atau gagal ginjal.
IIC	Ekstensi tumor ke bagian kelenjar getah bening regional.
IV	Penyebaran tumor mecapai mukosa kandung kemih atau rektum (dibuktikan dengan pemeriksaan biopsi), dengan atau tidak mecapai ke panggul sejati.
IVA	Ekstensi tumor kanker telah menginvasi kandung kemih ataupun rektum.
IVB	Kanker telah bermetastasis jauh ke tubuh atau organ lain.



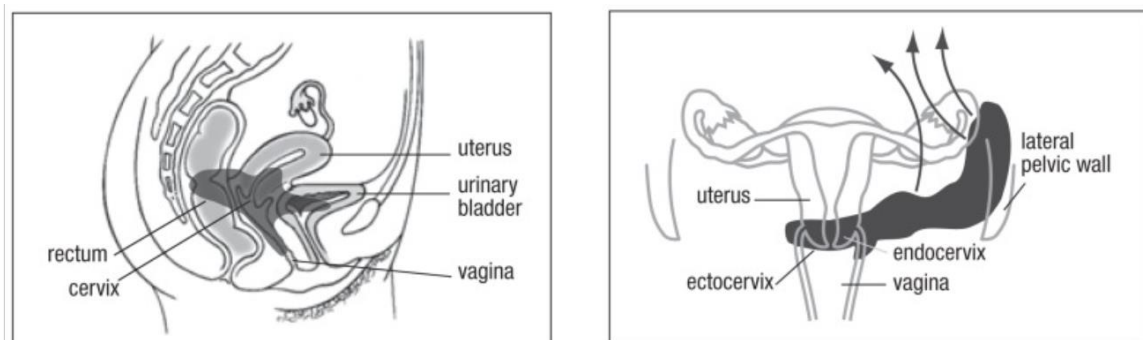
(a) FIGO stage IA



(b) FIGO stage IIA dan IIB



(c) FIGO stage IIIA dan IIIB



(d) FIGO stage IVA dan IVB

Gambar 2.5. Stadium Kanker FIGO 2018.<sup>2729</sup>

### 2.3. Metabolisme Pada Kanker

Bermula dari tahun 1927 dari penemuan Otto Warburg yaitu “*Warburg Effect*” yang menyatakan bahwa sel kanker dapat memanifestasikan fenotip metabolik yang unik, ditandai dengan terjadinya peningkatan konsumsi glukosa dibandingkan dengan sel normal. Efek Warburg mengarah pada gagasan bahwa kanker adalah penyakit yang berhubungan dengan metabolik, sebuah gagasan yang didukung secara luas hingga tahun 1970-an ketika konsep baru muncul yaitu konsep kanker sebagai kelainan genetik. Beberapa tahun belakangan ini, gagasan kanker sebagai gangguan dari metabolisme telah muncul kembali. Ironisnya, pertumbuhan ini juga

didukung oleh teknologi sekuensing yang ditingkatkan dan ditambah dengan peningkatan oleh data genetik serta peningkatan aksesibilitas ke metabolomik. Karena hal tersebut menyebabkan penemuan onkometabolit.<sup>5 30</sup>

Onkometabolit merupakan metabolit seluler endogen yang terkumpul dalam tumor yang berfungsi sebagai pertahanan dan pertumbuhan tumor serta metastasis. Pada awalnya Penemuan 2-hydroxyglutarate sebagai modulator onkometabolit dalam konsentrasi tinggi dalam glioma menyebabkan penemuan onkometabolit lain dan pada jenis kanker yang berbeda-beda. Kerja Onkometabolit 2-hydroxyglutarate secara fungsional merubah pola metilasi histon, mengubah ekspresi diferensial gen, serta menghasilkan karsinogenesis. Onkometabolit yang ditemukan pada baru – baru ini adalah fumarat pada karsinoma sel ginjal, onkometabolit sarcosine terdapat pada kanker prostat, onkometabolit glisin terdapat pada kanker payudara, onkometabolit asparagin terdapat pada kanker darah, onkometabolit kolin terdapat pada kanker otak, onkometabolit, glukosa, laktat, serin, serta glutamin pada jenis kanker lain. Peningkatan serta akumulasi dari onkometabolit pada kanker terkait dengan kebutuhannya untuk mempertahankan proses glikolisis aerobik, glutaminolisis, ataupun sametabolisme satu karbon. Penemuan onkometabolit ini dapat sebagai bukti bahwa terdapat keadaan pada kanker, serta menghubungkan bahwa munculnya kanker dengan terjadinya gangguan dalam produksi energi.<sup>30</sup>

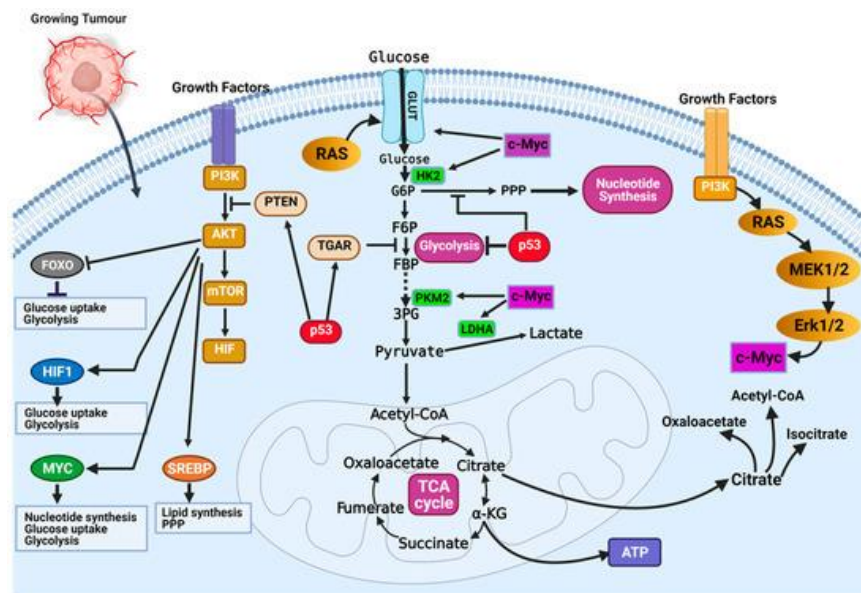
### **2.3.1. Reprogramming Metabolisme Glukosa**

Sel kanker memerlukan makromolekul yang sangat tinggi untuk mempertahankan keadaan proliferasinya. Sel kanker bergantung pada glikolisis untuk menghasilkan ATP dengan menghasilkan laktat. Sel yang berkembang dengan sangat cepat membutuhkan banyak sekali molekul ATP, Warburg menjelaskan bahwa terjadinya peningkatan ketergantungan pada glikolisis berasal dari tidak berfungsinya mitokondria pada sel kanker.<sup>30</sup>

### **2.3.2. Mekanisme Reprogramming Metabolisme Glukosa**

Metabolisme glukosa adalah jalur metabolisme yang paling tidak beraturan. Reprogramming metabolik glukosa dapat terjadi di seluruh jenis kanker. Namun, mekanisme spesifik yang dapat terlibat dalam pemrograman ulang metabolisme glukosa berbeda di antara jenis kanker, bahkan dalam kanker dengan asal yang sama. Pusat reprogramming metabolisme glukosa adalah perubahan dari ekspresi enzim yang terlibat. Pasokan oksigen yang terbatas pada jalur ini membuat

lingkungan hipoksia. Lingkungan hipoksia membuat sel kanker menginduksi ekspresi Hypoxia-inducible factor 1 and 2 (HIF-1 dan HIF-2). Dari peningkatan ekspresi faktor transkripsi HIF mengaktivasi onkogen yaitu, Ras, PI3K-Akt, dan MYCBP. Peningkatan tersebut juga menonaktifkan gen penekan tumor yaitu P53 dan PTEN bertujuan untuk mempertahankan fenotip glikolitik dari sel kanker. Tidak aktifnya gen penekan tumor TP53 adalah kunci utama pada kanker dan berkontribusi pada peningkatan glikolisis. Inaktivasi P53 melepaskan represi transporter glukosa yaitu GLUT1 dan GLUT4 serta menurunkan ekspresi TIGAR, dan juga inhibitor glikolitik. Pengaktifan reseptor faktor pertumbuhan akan mengaktifkan jalur PI3K / Akt onkogenik dan mengaktifkan target hilir yaitu FOXOs, HIF1a, MYCBP, dan SREBP yang sangat berkontribusi terhadap pemrograman ulang metabolisme glukosa pada sel kanker.<sup>30 31</sup>



Gambar 2.6. Mekanisme Reprogramming Metabolisme Glukosa.<sup>30</sup>

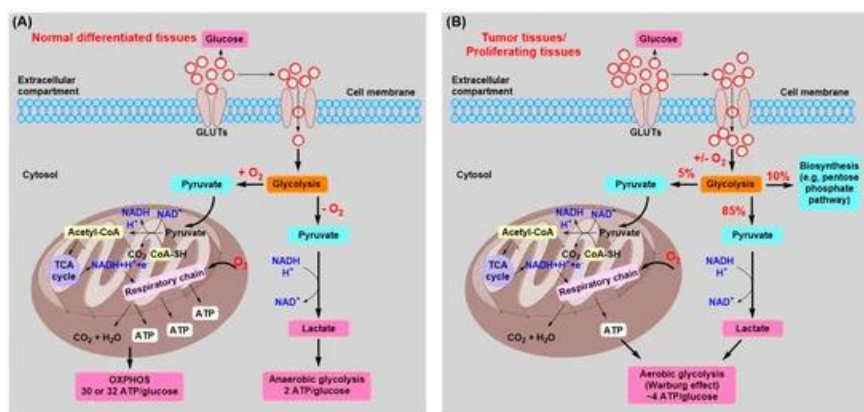
### 2.3.3. Reprogramming Metabolisme Laktat

Efek Warburg menggambarkan fenomena luar biasa dimana kanker cenderung menggeser mode fosforilasi oksidatif (OXPHOS) menjadi glikolisis aerobik meskipun banyak oksigen. Laktat adalah produksi utama dari proses glikolisis pada Warburg efek ini. Laktat mengandung dua isomer yaitu L-laktat dan D-laktat. Akumulasi laktat yang tinggi pada tumor padat dan lingkungan ekstraselulernya dianggap sebagai awal perkembangan yang ganas yang akan mengakibatkan prognosis yang buruk. Laktat memprogram ulang lingkungan mikro tumor / tumor microenvironment (TME) yang memiliki efek mendalam

pada fenotip dari sel kanker. Hal ini dapat menguntungkan sel kanker sehingga sel kanker dapat mempertahankan proliferasi sel, menaikkan pertumbuhan, melawan apoptosis sel, memungkinkan replikasi permanen, menginduksi terjadinya angiogenesis, mengaktifkan invasi sel dan metastasis ketempat yang jauh, reprogramming metabolisme energi bagi sel kanker dan menghindari kerusakan tubuh sel. Kegunaan laktat dalam sel kanker tidak hanya bahan bakar respirasi akan tetapi juga berguna sebagai pengatur sinyal molekuler intraseluler dan ekstraseluler di lingkungan mikro tumor / tumor microenvironment (TME).<sup>31 32</sup>

#### 2.4. Modulasi Efek Warburg

Pada awal penemuannya Warburg mempelajari proses respirasi dan fermentasi yang terjadi dalam sel tumor. Secara fisiologis pada respirasi seluler sel normal, glukosa akan diubah menjadi piruvat, yang kemudian memasuki siklus Tricarboxylic acid (TCA) untuk menjalani fosforilasi oksidatif dengan adanya oksigen, setelah siklus tersebut akan menghasilkan produksi laktat yang sedikit atau minimal. Namun, dalam studinya Warburg mengamati terdapat peningkatan penyerapan glukosa dan peningkatan produksi asam laktat yang terjadi dalam sel tumor dibandingkan dengan sel normal. Fenomena inilah yang disebut sebagai efek Warburg atau glikolisis aerobik.<sup>33</sup>



Gambar 2.9. Skema Perbedaan Antara Fosforilasi Oksidatif Glikolisis Anaerobik (Kiri), Glikolisis Aerobik / Efek Warburg (Kanan).<sup>34</sup>

Perbedaan signifikan diantara sel jaringan kanker dan sel jaringan normal terdapat pada metabolismenya.<sup>30</sup> Supaya dapat menjalankan fungsinya dengan baik sel membutuhkan energi berupa ATP. Secara fisiologis, metabolisme dan sumber energi dari suatu sel didapatkan dari makronutrient seperti karbohidrat, protein, serta lemak. Metabolisme sel terdiri dari metabolisme aerobik dan metabolisme anaerobik.

Sumber energi yang paling utama digunakan sel kanker adalah glukosa. Untuk mendapatkan glukosa sel kanker perlu melakukan sebuah proses pemecahan glukosa yaitu proses glikolisis.<sup>35</sup>

Pada sel kanker mengalami metabolisme aerobik secara berkelanjutan yang dikarenakan oleh pembelahan sel yang sangat tidak terkontrol. Otto Warburg menyatakan bahwa pada sel kanker terdapat gangguan yang terjadi pada mitokondria sehingga menyebabkan glukosa yang diambil oleh sel kanker ini diubah menjadi asam laktat dalam jumlah yang banyak. Hal ini dapat mengindikasikan bahwa pertumbuhan dari sel kanker dapat dihambat atau di hentikan dengan cara memotong jalur glukosa dari sel kanker akan tetapi tetap dapat memenuhi asupan glukosa untuk sel – sel yang sehat pada tubuh.<sup>6</sup>

## 2.5. Daun Kale (*Brassica oleracea* L)

Daun Kale (*Brassica oleracea* L) merupakan tumbuhan yang termasuk kedalam sayuran yang berfamili dengan *Brassicaceae*, sayuran famili *Brassica* ini telah banyak tersebar di seluruh dunia kecuali Antartika.<sup>36</sup>

Adapun taksonomi daun Kale sebagai berikut :

- a) Kingdom : *Plantae*
- b) Divisi : *Spermatophyta*
- c) Kelas : *Dicotyledoneae*
- d) Ordo : *Brassicales*
- e) Famili : *Brassicaceae*
- f) Genus : *Brassica*
- g) Spesies : *Brassica oleracea* L.
- h) Nama Lokal : Daun Kale



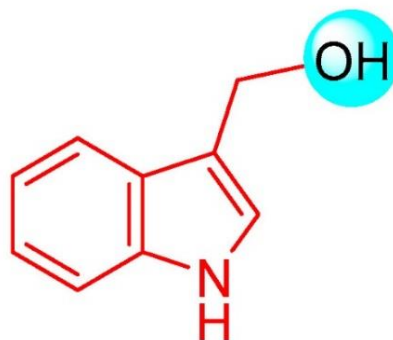


Gambar 2.10. Daun Kale (*Brassica oleracea L*)

Sayuran dari famili *Brassica* ini sangat menarik untuk diteliti karena banyaknya manfaat dan kaya akan antioksidan dan adanya beberapa macam substansi yang terkandung di dalamnya. Daun Kale (*Brassica oleracea L*) ini juga mempunyai substansi yang khas seperti *Indole* yang merupakan derivat dari *glucobrassicin*.<sup>37</sup>

## 2.6. Kerja *Indole-3-Carbinol* dalam Modulasi Efek Warburg

*Indole-3-Carbinol* adalah fitokimia penting yang terkandung dalam sayuran keluarga Brassicaceae mampu mengerahkan berbagai aktivitas di antaranya adalah aktivitas kardioprotektif, antioksidan, antiinflamasi, antiangiogenesis, dan antimikroba, promosi apoptosis dari sel tumor. Baru-baru ini juga didapatkan bahwa *Indole-3-Carbinol* sebagai penghambat dari regresi virus Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS)-CoV-2, termasuk varian Omicron.<sup>38</sup>

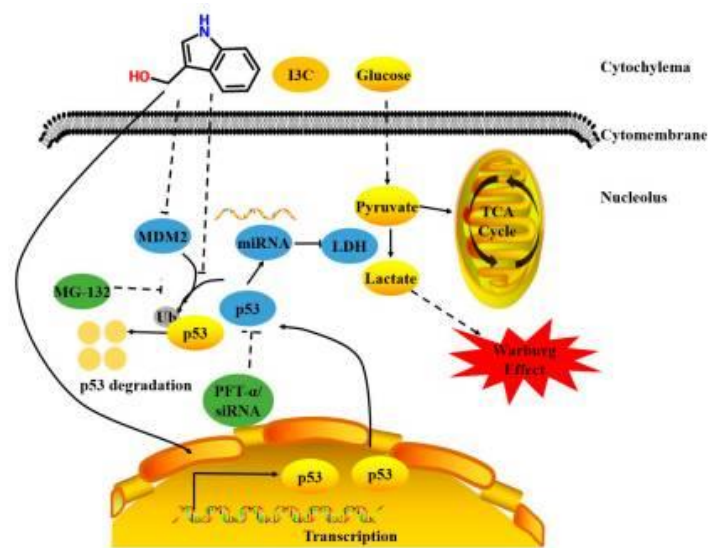


Gambar 2.11. Struktur Kimia *Indole-3-Carbinol*.<sup>38</sup>

Pada penelitian yang telah dilakukan sebelumnya mendapatkan hasil bahwa *Indole-3-Carbinol* untuk efek Warburg efektif dalam menghambat fenotip glikolitik serta menghambat produksi laktat dalam sel kanker hati. *Indole-3-Carbinol* ini juga

menunjukkan dapat menekan dari proliferasi dan migrasi pada sel kanker hati. Penelitian tersebut juga menunjukkan peran p53 secara langsung dalam menghambat transkripsi dari glukosa transporter 1 (GLUT1) dan GLUT4 dalam mengambil glukosa. *Indole-3-Carbinol* diketahui adalah senyawa yang terbentuk dari zat glucobrassicin dimana memiliki sifat anti kanker yang terbukti mengurangi neoplasia pada intraepitel serviks (NIS) dan perkembangannya menjadi kanker serviks.<sup>39</sup>

pada penelitian sebelum nya pada kanker hati menunjukkan hasil bahwa *Indole-3-Carbinol* dapat menginduksi mir-34a (penekan tumor signifikan yang memainkan peran penting dalam menghambat onkogenesis dan perkembangan tumor), yang kemudian *Indole-3-Carbinol* menargetkan LDHA (*laktat dehidrogenase A*) dimana enzim ini merupakan enzim yang berperan penting untuk glikolisis aerobik (efek Warburg) dengan cara menghambat degradasi p53 oleh MDM2 (Mouse double minute 2 homolog ), sehingga dapat menurunkan ekspresi LDHA dan menekan glikolisis aerobik (efek Warburg), sehingga hal ini dapat menyebabkan penghambatan pertumbuhan sel kanker hati. Hal ini tentunya juga dapat berpotensi sebagai penekan glikolisis pada sel kanker lain seperti sel kanker serviks.<sup>8</sup>



Gambar 2.12. Diagram Skematik *Indole-3-Carbinol* dalam Kanker Hati.<sup>8</sup>

## 2.7. Ekspresi Protein pada Sel Kanker Serviks

### 2.7.1. Ekspresi Protein IGF2BP2

Pada kanker serviks ditemukan bahwa terjadi ekspresi berlebihan atau overekspresi pada protein IGF2BP2. Secara mekanis *IG2BP2* dapat mempromosikan dari E6/E7 sehingga lebih mempromosikan dari proses glikolisis aerobik, proliferasi, dan metastasis dalam kanker serviks.<sup>4</sup> Pada identifikasi

bioinformatika yang dilakukan pada sel kanker hati atau *hepatocellular carcinoma* (HCC) di dapatkan bahwa IGF2BP2 juga dapat meregulasi gen - gen terkait dalam proliferasi sel sehingga dapat mengganggu dari siklus sel normal, mengubah lingkungan mikro tumor dan mempromosikan perkembangan dari sel kanker hati. Sehingga sangat berhubungan erat dengan prognosis dan staging daripada kanker hari tersebut.<sup>40</sup> pada kanker yang lain, didapatkan IGF2BP2 juga di temukan terjadi overekspresi pada sel kanker payudara. Overekspresi ini juga dapat memainkan peran dalam regulasi gen yang terlibat dalam proliferasi, invasi, dan metastasis dari sel kanker payudara.<sup>41</sup>

### 2.7.2. Ekspresi Protein MYCBP

Pada MYCBP mengalami ekspresi berlebihan atau overekspresi pada sebagian besar kanker manusia dan berkontribusi pada penyebab setidaknya 40% tumor. MYCBP dapat mengatur beberapa gen sehingga dapat membuat perubahan terkoordinasi dalam proliferasi sel dan metabolisme sel. MYCBP dapat merangsang gen yang terlibat dalam biosintesis protein, metabolisme kanker, faktor transkripsi dan gen siklus sel dan beberapa microRNA, menghambat ekspresi microRNA lain serta menghambat beberapa gen penekan tumor. Efek pleiotropik ekspresi MYCBP terjadi pada tingkat molekular dan seluler, dan mempengaruhi hampir setiap aktivitas kehidupan sel.<sup>42</sup>

## 2.8. Peran Protein Dalam Mempengaruhi Warburg

### 2.8.1. Peran Protein IGF2BP2 Dalam Mempengaruhi Glikolisis

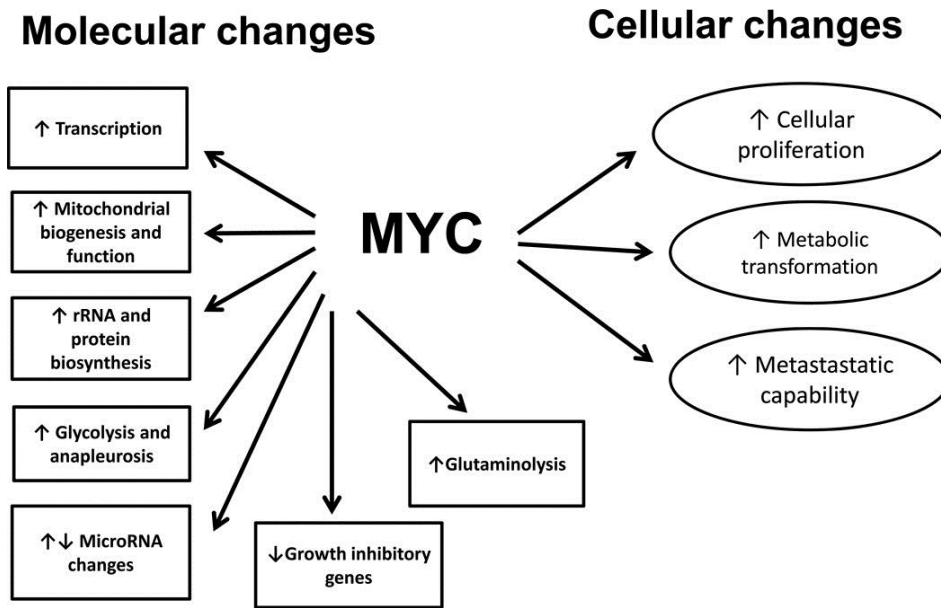
IGF2BP2 (*Insulin-like Growth Factor 2 mRNA Binding Protein 2*) adalah protein pengikat RNA yang berperan dalam regulasi ekspresi gen melalui pengikatan pada mRNA. Penelitian terbaru telah menunjukkan bahwa IGF2BP2 dapat mempengaruhi glikolisis melalui pengaruhnya terhadap ekspresi gen yang terlibat dalam jalur glikolisis. IGF2BP2 dapat menstabilkan mRNA enzim glikolisis, IGF2BP2 dapat berikatan dengan mRNA enzim-enzim kunci dalam jalur glikolisis, seperti enzim glikolisis *glikeraldehida-3-fosfat dehidrogenase* (GAPDH), dan *fruktosa-1,6-bisfosfat aldolase* (ALDOA). Melalui interaksi ini, IGF2BP2 dapat meningkatkan stabilitas mRNA enzim-enzim ini, yang pada akhirnya dapat menghasilkan peningkatan ekspresi dan aktivitas enzim-enzim glikolisis. meningkatkan laju glikolisis. IGF2BP2 juga mempengaruhi transpor glukosa yaitu GLUT1 dengan cara terjadi peningkatan GLUT1, Peningkatan

ekspresi GLUT1 dapat meningkatkan kemampuan sel kanker serviks untuk mengambil glukosa dari lingkungan, yang mendukung kelangsungan glikolisis. Beberapa studi juga telah menunjukkan bahwa IGF2BP2 dapat mempengaruhi respons seluler terhadap glukosa dan metabolisme energi secara keseluruhan. Perubahan dalam ekspresi enzim-enzim glikolisis yang diatur oleh IGF2BP2 dapat berkontribusi pada perubahan tingkat glikolisis dan pemecahan glukosa.<sup>4 43</sup>

Pada kanker pankreas IGF2BP2 ditemukan dapat mempromosikan glikolisis aerobik dan proliferasi sel *Pancreatic ductal adenocarcinoma* (PDAC) dengan langsung mengikat dan menstabilkan mRNA GLUT1. Pada analisis lebih lanjut mengungkapkan bahwa ekspresi berlebihan IGF2BP2 menghambat ekspresi apoptosis (*B-cell lymphoma-extra large*) dan *ubiquitination* (*E3 ubiquitin ligase Smurf1 and F-Box protein 45*) dari gen terkait. Ekspresi IGF2BP2 juga mendorong perkembangan tumor dengan menginduksi transisi epitel mesenkim (*Epithelial-mesenchymal transition/EMT*).<sup>44</sup>

### **2.8.2. Peran Protein MYCBP Dalam Mempengaruhi Glikolisis**

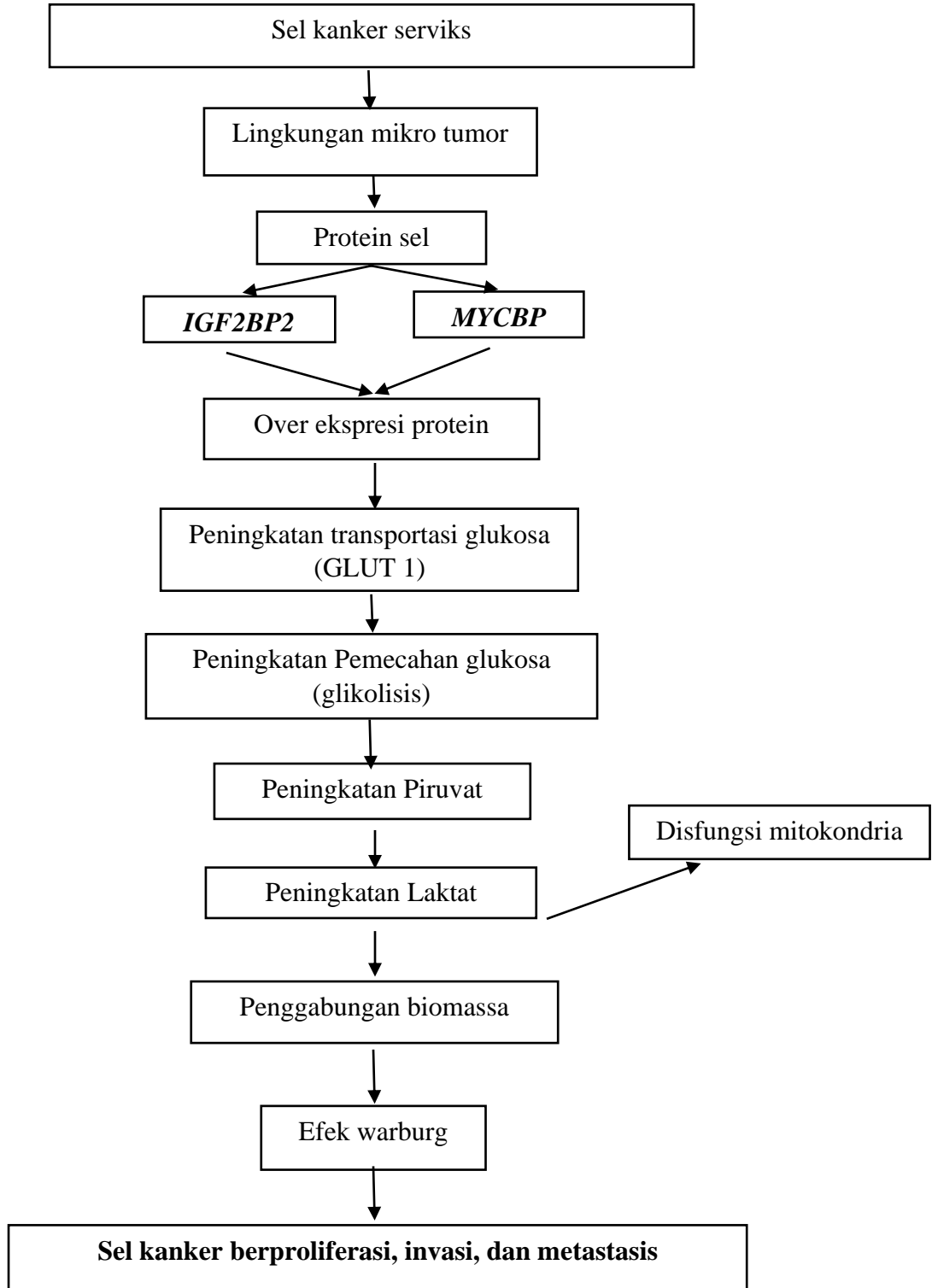
Pada MYCBP sering kali mengalami amplifikasi (duplikasi berlebih) atau mutasi, yang mengakibatkan ekspresi yang meningkat secara berlebihan. Akibatnya, glikolisis dalam sel kanker ditingkatkan, bahkan dalam kondisi yang normalnya akan mendorong sel untuk menggunakan jalur metabolisme lain. Dengan meningkatkan laju glikolisis, MYCBP memberikan sel kanker dengan sumber energi yang cepat namun tidak efisien, yang mendukung pertumbuhan yang cepat serta kebutuhan metabolik yang tinggi dari sel-sel kanker. Oleh karena itu, peran MYCBP dalam mengatur glikolisis memiliki dampak besar pada perkembangan dan progresi kanker.<sup>4546</sup>



Gambar 2.13. Efek pleiotropik ekspresi MYCBP. <sup>42</sup>

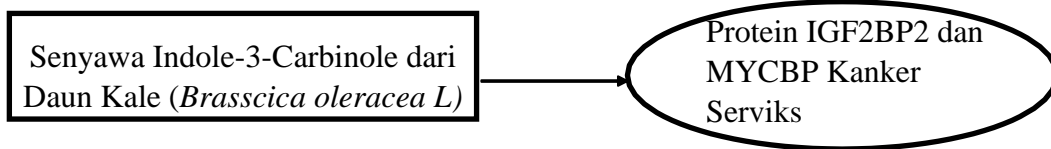
MYCBP dapat meningkatkan ekspresi enzim-enzim yang terlibat dalam jalur glikolisis, seperti enzim enolase, fosfofruktokinase, dan piruvat kinase. Dengan meningkatkan ekspresi enzim-enzim ini, MYCBP mempercepat laju reaksi-reaksi dalam glikolisis. MYCBP juga dapat mempengaruhi ekspresi transporter glukosa, seperti GLUT1 (*Glucose Transporter 1*), yang membantu sel mengambil lebih banyak glukosa dari lingkungan eksternal. MYCBP juga dapat mempengaruhi jalur metabolisme asam lemak. Dalam beberapa kasus, ketika glukosa tidak tersedia dalam jumlah cukup, sel kanker dapat beralih ke penggunaan asam lemak sebagai sumber energi. MYCBP dapat berperan dalam mengatur jalur metabolisme ini. <sup>4546</sup>

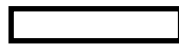
## 2.9. Kerangka Teori




## 2.10. Kerangka Konsep

Keterangan:



 : Variabel independent (bebas)

 : Variabel dependent (terikat)

## 2.11. Hipotesis

Ha: Ada Potensi Senyawa *Indole-3-Carbinol* terhadap kanker serviks tertarget protein IGF2BP2 dan MYCBP

H0: Tidak ada Potensi Senyawa *Indole-3-Carbinol* kejadian kanker serviks tertarget protein IGF2BP2 dan MYCBP

## BAB III

### METODE PENELITIAN

#### 3.1. Definisi Operasional

Tabel 3.1. Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Skala Ukur	Hasil Ukur
<b>Protein IGF2BP2 dan MYCBP</b>	Protein target pada kanker serviks yang memainkan peran siliko pada efek warburg	Observasi in siliko	Nominal	Visulisasi 2D, Visualisasi 3D, Druglikeness, Prediksi ADMETOX
<b>Independen</b>	Senyawa yang terkandung dalam daun Kale ( <i>Brassica oleracea L.</i> )	Observasi in siliko	Nominal	Visulisasi 2D, Visualisasi 3D, Druglikeness, Prediksi ADMETOX

#### 3.2. Jenis Penelitian

Jenis penelitian menggunakan analisis in siliko dengan molecular docking protein IGF2BP2 dan MYCBP dengan ligan *Indole-3-Carbinol*

#### 3.3. Waktu dan Tempat Penelitian

Pelaksanaan penelitian dilakukan dalam 4 bulan (diperkirakan bulan agustus hingga desember 2024). Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara. Identifikasi dan karakterisasi senyawa *Indole-3-Carbinol* dari daun Kale (*Brassica oleracea L.*) dilakukan di Laboratorium Sistemika Tumbuhan Departemen Biologi FMIPA dan Fakultas Farmasi USU. Studi in siliko dan dilaksanakan pada Laboratorium Terpadu FK UMSU.



### **3.4. Populasi dan Sampel Penelitian**

#### **3.4.1. Populasi Penelitian**

Populasi yang ditargetkan dalam penelitian ini yaitu interaksi antara protein dan ligan yang didapatkan melalui analisis in siliko.

#### **3.4.2. Sampel Penelitian**

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah protein kanker serviks yaitu IGF2BP2 dan MYCBP dengan ligan *Indole-3-Carbinol*.

### **3.5. Teknik Pengumpulan Data**

Pada penelitian ini peneliti telah melewati training molecular docking di Universitas Indonesia dengan expert Immanuelle Kezia, S.Si., M.Biomed. Teknik pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan menentukan jumlah dan jenis ikatan yang terbentuk, seperti ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik, dan ikatan *Van Der Waals*. Selain itu, juga dilakukan evaluasi energi ikatan dan titik ikatan antara ligan dengan senyawa aktif. Bahan dan Alat yang digunakan

#### **3.5.1. Bahan**

Bahan yang digunakan untuk adalah daun Kale (*Brassica oleracea L.*), protein IGF2BP2 dan *MYCBP*, Senyawa *Indole-3-Carbinol*

#### **3.5.2. Alat**

Alat yang digunakan adalah software OpenBabel, Ramachandran plot, Chimera 1.6.2, LigPlot+, LigandScout3.1, Discovery Studio 4.1, dan PyMol.

### **3.6. Analisis Data**

#### **3.6.1. Analisis in siliko**

Setelah senyawa daun Kale (*Brassica oleracea L.*) telah diidentifikasi, selanjutnya akan dilakukan analisis in siliko bertujuan untuk menginvestigasi molecular docking dengan protein ligan.

##### **3.6.1.1. Pencarian asam amino penyusun protein target**

Sekuens dari asam amino penyusun protein ligan diperoleh dari pencarian di database National Center for Biotechnology Information (NCBI), United States National Library of Medicine (NLM), National Institute of Health (NIH). Selanjutnya akan membuat Struktur 3D protein ligan dalam bentuk format file dengan tipe file \*.sdf, lalu akan dikonversi menjadi tipe file \*.pdb dengan menggunakan software OpenBabel.

### **3.6.1.2. Pencarian Struktur Senyawa *Indole-3-Carbinol* dari Daun Kale (*Brassica oleracea* L)**

Pembuatan struktur 3D komponen senyawa dari *Indole-3-Carbinol* daun Kale (*Brassica oleracea* L) diperoleh dengan pencarian menggunakan PubChem Open Chemistry Database. Struktur 3D dari berbagai senyawa tersebut akan dibuat dalam bentuk format menggunakan tipe file \*.sdf, lalu akan dikonversi menjadi tipe file \*.pdb dengan menggunakan software OpenBabel.

### **3.6.1.3. Pemodelan struktur Model 3D protein**

Pembuatan struktur model 3D dari protein target diprediksi menggunakan webservice SWISS-MODEL dengan menggunakan metode homology modelling. Selanjutnya struktur model 3D protein yang telah dibentuk kemudian divalidasi dengan menggunakan Ramachandran plot.

### **3.6.1.4. Analisis interaksi ikatan antara protein dengan ligan**

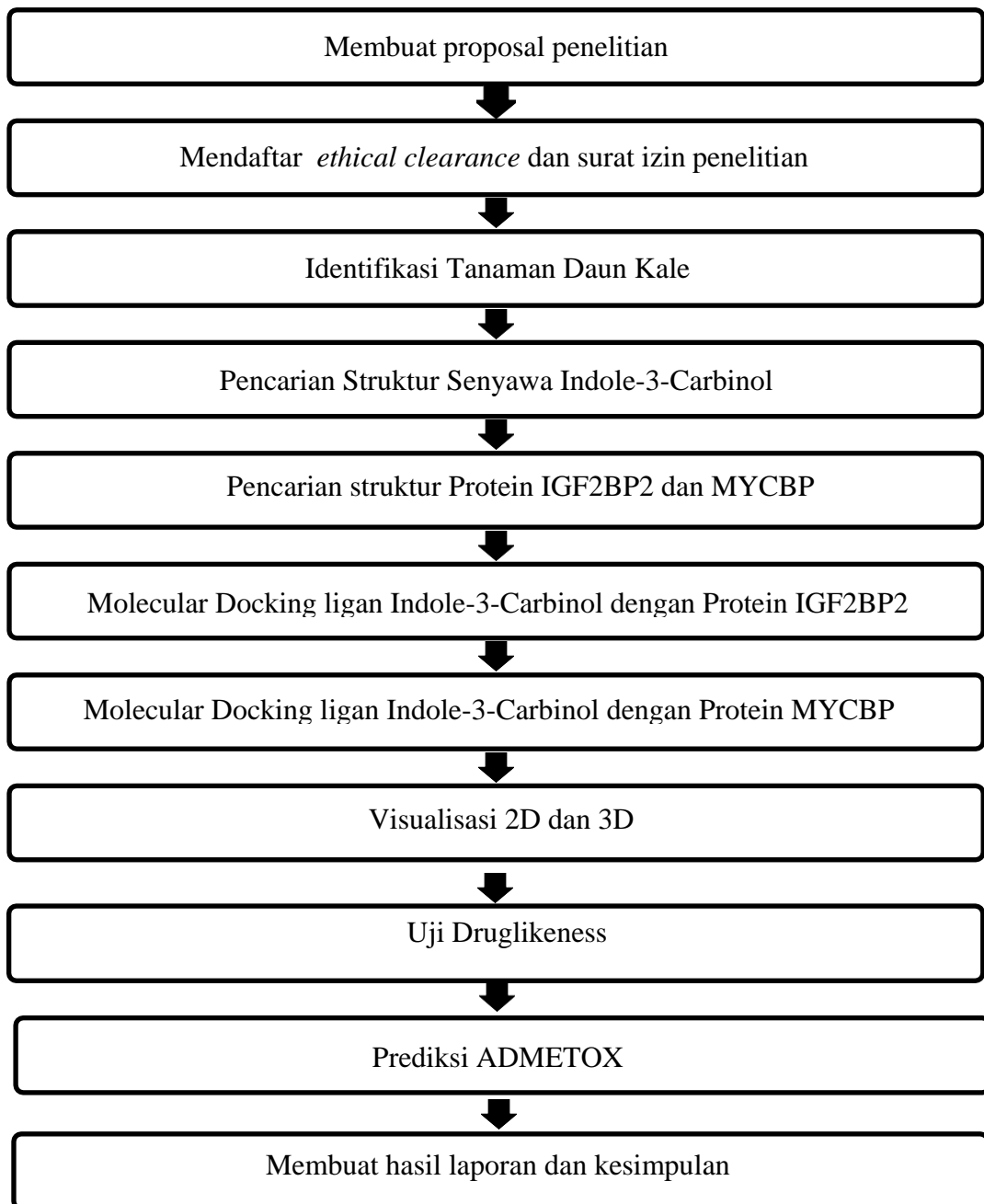
Setelah rangkaian docking telah selesai dilakukan, hasil dari analisis docking selanjutnya akan divisualisasi dengan menggunakan software Discovery Studio 4.1, LigPlot+ serta LigandScout 3.1.

## **3.7. Metode Analisis Data**

### **3.7.1. Analisis Data**

Setelah didapatkan data yang telah dilakukan pada analisis in siliko selanjutnya data yang didapatkan dianalisis secara prinsip bioinformatika. Analisis in siliko yang dilakukan meliputi: Analisis interaksi antara protein IGF2BP2 dengan ligan *Indole-3-Carbinol* dilakukan untuk melihat jumlah dan jenis ikatan yang terbentuk, seperti ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik, dan ikatan *Van Der Waals*. Selain itu, juga dilakukan evaluasi energi ikatan dan titik ikatan antara ligan dengan senyawa aktif.

### 3.8. Alur Penelitian



## BAB 1V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1. Hasil Penelitian

Identifikasi tanaman dari daun kale dilakukan pada Laboratorium Sistematika Tumbuhan Herbarium Medanense FMIPA Universitas Sumatera Utara dengan surat permohonan izin penelitian No: 919/II.3.AU/UMSU-08/F/2023 (**lampiran 1**).

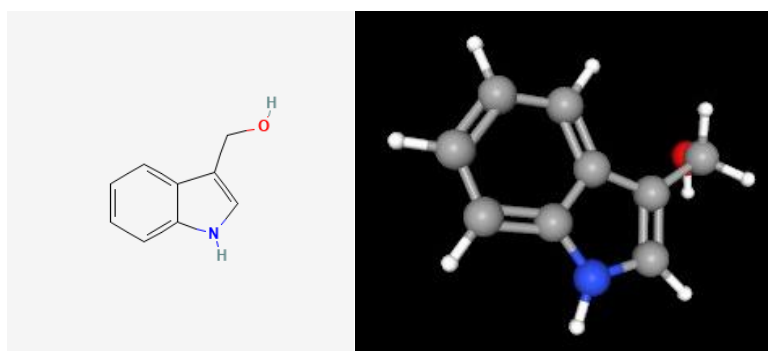
##### 4.1.1. Identifikasi Tanaman Daun Kale

Hasil identifikasi tanaman dari daun kale yang dilakukan pada laboratorium Sistematika Tumbuhan Herbarium Medanense di Universitas Sumatera Utara (**lampiran 2**), didapatkan hasil:

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Kelas	: <i>Dicotyledoneae</i>
Ordo	: <i>Brassicales</i>
Famili	: <i>Brassicaceae</i>
Genus	: <i>Brassica</i>
Spesies	: <i>Brassica oleracea L</i>
Nama Lokal	: Daun Kale

##### 4.1.2. Pencarian Struktur Senyawa *Indole-3-Carbinol* Daun Kale

Pencarian struktur senyawa dilakukan dengan mesin pencarian pada situs website database Pubchem National Library of Medicine (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).



(A)

(B)

Gambar 4.1. Struktur Senyawa *Indole-3-Carbinol*

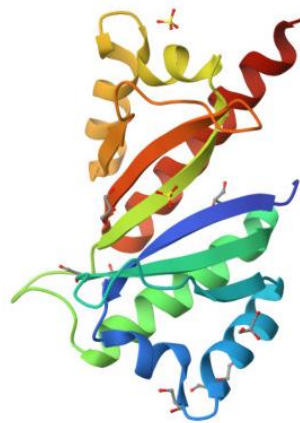
(A) Struktur 2D senyawa *Indole-3-Carbinol*, (B) Struktur 3D senyawa *Indole-3-Carbinol*

Senyawa *Indole-3-Carbinol* terkonfirmasi pada situs website tersebut sejak tanggal 16 september 2004. Artinya senyawa ini bukanlah senyawa yang baru saja ditemukan melainkan

sudah sejak lama teridentifikasi. Senyawa *Indole-3-Carbinol* memiliki Isomeric SMILES: C1=CC=C2C(=C1)C(=CN2)CO dengan formula *Indole-3-Carbinol* yaitu  $C_9H_9NO$ .

#### 4.1.3. Pencarian Struktur Protein IGF2BP2

Pencarian struktur protein dilakukan dengan mesin pencarian pada situs website database UniProt (<https://www.uniprot.org/>) dengan nama protein Insuline-like growth factor 2 mRNA- binding protein 2 dengan kode entry QY6M1, dan organisme *homo sapiens (human)*. Selanjutnya dikonfirmasi dengan RCSB-PDB pada *Protein Data Bank (PDB)*. Identifier 6ROL dan metode X-ray memiliki posisi rantai pada A/B/C/D.

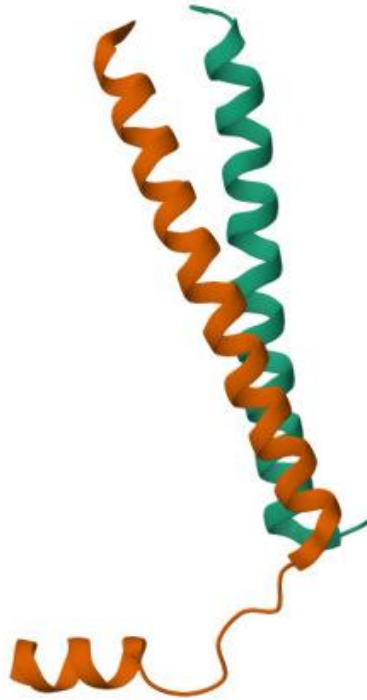


Gambar 4.2. Struktur Protein IGF2BP2

Protein IGF2BP2 telah terdaftar Pada RCSB-PDB sejak 13 Mei 2019. IGF2BP2 dengan identifier 6ROL tidak terdapat mutasi. Memiliki 166 *sequence length*. Pada penelitian ini menggunakan rantai pada posisi A.

#### 4.1.4. Pencarian Struktur Protein MYCBP

Pencarian struktur protein dilakukan dengan mesin pencarian pada situs website database UniProt (<https://www.uniprot.org/>) dengan nama protein MYCBP-binding protein dengan kode entry Q99417, dan organisme *homo sapiens (human)*. Selanjutnya dikonfirmasi dengan RCSB-PDB pada *Protein Data Bank (PDB)*. Identifier 2YY0 dan metode X-ray memiliki posisi rantai pada A/B/C/D.



Gambar 4.3. Struktur Protein *MYCBP*

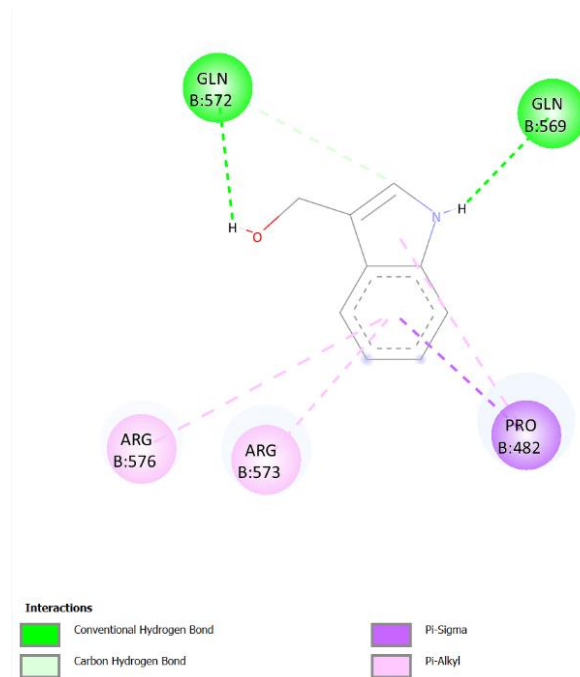
Protein *MYCBP* telah terdaftar Pada RSCB-PDB sejak 27 April 2007. *MYCBP* dengan identifier 2YY0 tidak terdapat mutasi. Memiliki 53 *sequence length*. Pada penelitian ini menggunakan rantai pada posisi A.

#### 4.1.5. Molecular Docking Ligan *Indole-3-Carbinol* dengan Protein IGF2BP2

##### 4.1.5.1. Visualisasi 2 Dimensi

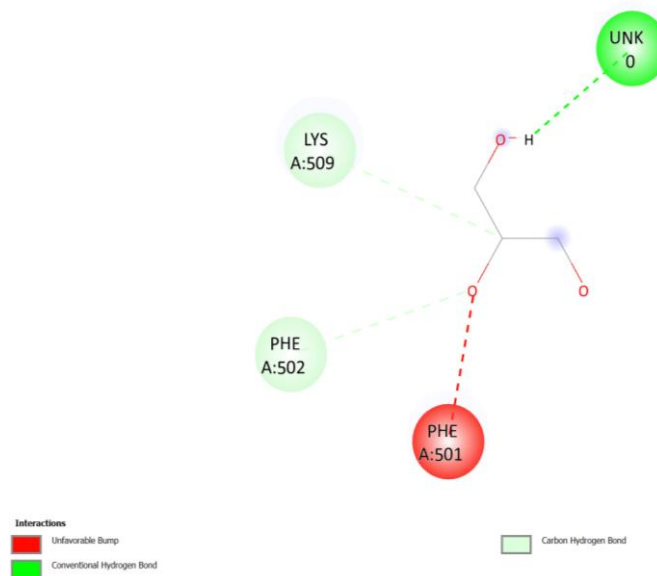
Visualisasi 2 Dimensi didapatkan dengan menggunakan aplikasi *Discovery Studio2021*. Visualisasi 2 Dimensi dalam uji *in silico* bertujuan untuk memvisualisasikan struktur molekul ligan dan reseptor dalam bentuk 2 dimensi. Dalam konteks ikatan hidrogen, visualisasi 2 Dimensi dapat membantu dalam memvisualisasikan interaksi antara atom hidrogen dan atom lain dalam molekul ligan dan reseptor. Sementara itu, untuk ikatan *Van Der Waals*, visualisasi 2 Dimensi dapat digunakan untuk memvisualisasikan interaksi antara molekul polar dan nonpolar dalam bentuk dua dimensi. Namun, untuk ikatan hidrofobik, visualisasi 2 Dimensi mungkin kurang efektif karena sifatnya yang berkaitan dengan interaksi antara molekul polar dan nonpolar yang tidak menunjukkan interaksi khusus dalam bentuk ikatan.

Visualisasi 2D *Indole-3-Carbinol* dengan protein IGF2BP2 menunjukkan terdapat 5 ikatan. Pertama terdapat ikatan hidrogen sebanyak 2 ikatan yang terdapat pada 1 ikatan pada posisi GLN 572 dan 1 ikatan pada GLN 569. Terdapat juga ikatan pada posisi PRO 842, ARG 573 dan ARG 576.



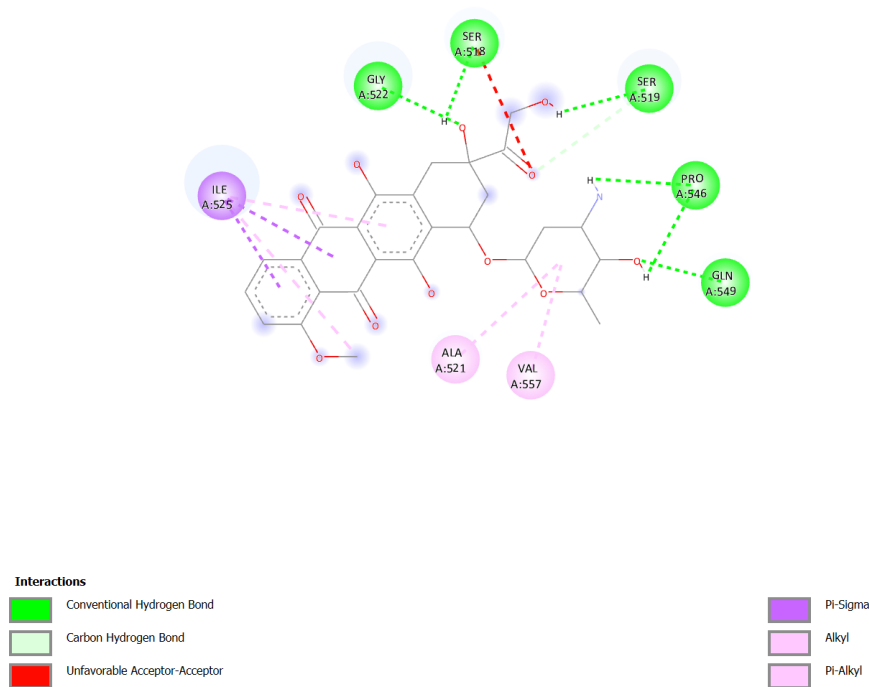
Gambar 4.5. Visualisasi 2D *Indole-3-Carbinol* dengan IGF2BP2

Sebagai pembanding ditambahkan senyawa obat konvensional kanker serviks yakni *5-Fluorouracil* dan *Doxorubicin* yang di docking dengan protein yang sama yaitu IGF2BP2. Pertama akan didocking terlebih dahulu ligan *5-Fluorouracil*.



Gambar 4.6. Visualisasi 2D *5-Fluorouracil* dengan IGF2BP2

Visualisasi 2 Dimensi dari ligan *5-Fluorouracil* dengan protein IGF2BP2 didapatkan hasil terdapat 4 ikatan. Terdapat 1 ikatan hidrogen yang berada pada posisi UNK 0. Terdapat juga 3 ikatan lain pada posisi PHE 501, PHE 502, dan YS 509. Selanjutnya didocking antara ligan *Doxorubicin* dengan protein IGF2BP2.

Gambar 4.7. Visualisasi 2D *Doxorubicin* dengan IGF2BP2

Visualisasi 2 Dimensi dari ligan *Doxorubicin* dengan protein IGF2BP2 didapatkan hasil terdapat 8 ikatan. Terdiri dari 5 ikatan hidrogen terdiri dari 1 ikatan pada posisi GLY 522, SER 518, SER 519, dan GLN 549. Terdapat 2 ikatan hidrogen pada posisi PRO 546. Terdapat juga 3 ikatan yang terjadi yaitu ikatan pada posisi IIE 525, ALA 521 serta VAL 557.

Tabel 4.1. Residu Asam Amino IGF2BP2(Q9Y6M1) pada senyawa *Indole-3 Carbinol*

Protein	<i>Bioactive Compound</i>	<i>Amino Acid Residue Q9Y6M1</i>				
		GLN 572	GLN 569	PRO 482	ARG 573	ARG 576
Q9Y6M1	<i>Indole-3-Carbinol</i>	✓	✓			
	Total	1	1			

Tabel 4.2. Residu Asam Amino IGF2BP2(Q9Y6M1) pada senyawa *5-Fluorouracil*

Protein	<i>Bioactive Compound</i>	<i>Amino Acid Residue Q9Y6M1</i>			
		UNK0	LYS 509	PHR 502	PHE 501
Q9Y6M1	<i>5-Fluorouracil</i>	✓			
	Total	1			



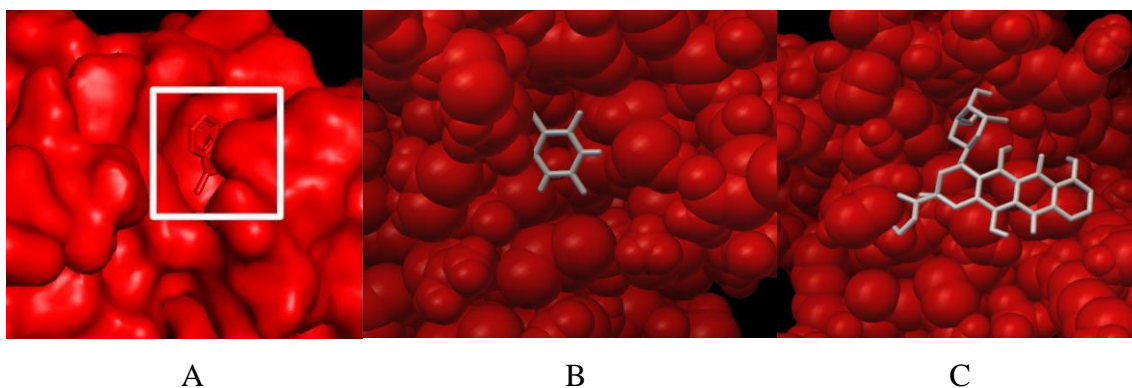
Tabel 4.3. Residu Asam Amino IGF2BP2(Q9Y6M1) pada senyawa *Doxorubicin*

Protein	Bioactive Compound	Amino Acid Residue Q9Y6M1						
		SER 519	SER 518	GLY 522	PRO 546	GLN 549	VAL 557	ALA 521
Q9Y6M1	<i>Doxorubicin</i>	✓	✓	✓	✓✓			
	Total	1	1	1	2			

Berdasarkan tabel residu asam amino diatas didapatkan senyawa *Indole-3-Carbinol* yang didocking dengan protein IGF2BP2 mempunyai jumlah 2 asam amino. Senyawa *5-Fluorouracil* memiliki jumlah 1 asam amino dan senyawa *Doxorubicin* memiliki jumlah 5 asam amino

#### 4.5.1.2. Visualisasi 3 Dimensi

Setelah melakukan visualisasi 2 Dimensi dilanjutkan membuat visualisasi 3 Dimensi dengan menggunakan aplikasi PyMOL. Visualisasi 3 Dimensi dalam uji in siliko bertujuan untuk memahami interaksi antara ligan dan reseptor (protein) secara detail. Dalam konteks ikatan hidrogen, visualisasi 3 Dimensi dapat membantu dalam memahami bagaimana ikatan hidrogen terbentuk antara ligan dan reseptor. Sementara itu, untuk ikatan *Van Der Waals*, visualisasi 3 Dimensi dapat digunakan untuk memahami gaya *Van Der Waals* yang terjadi antara molekul polar dan nonpolar. Namun, untuk ikatan hidrofobik, visualisasi 3 Dimensi mungkin lebih sulit dilakukan karena sifatnya yang berkaitan dengan interaksi antara molekul polar dan nonpolar yang tidak menunjukkan interaksi khusus dalam bentuk ikatan.



Gambar 4.8. Visualisasi 3D Protein IGF2BP2

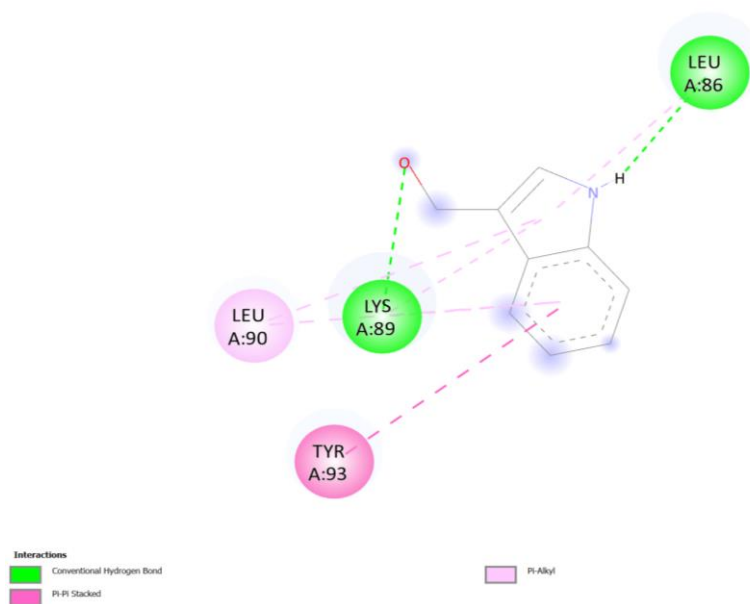
(A) IGF2BP2 dengan *Indole-3-Carbinol*, (B) IGF2BP2 dengan *5-Fluorouracil*, (C) IGF2BP2 dengan *Doxorubicin*

Visualisasi 3 Dimensi dilakukan pada protein IGF2BP2 dengan ligan *Indole-3-Carbinol* yang dibandingkan dengan ligan *5-Fluorouracil* dan *Doxorubicin*.

#### 4.1.6. Molecular Docking Ligan *MYCBP* dengan Protein IGF2BP2

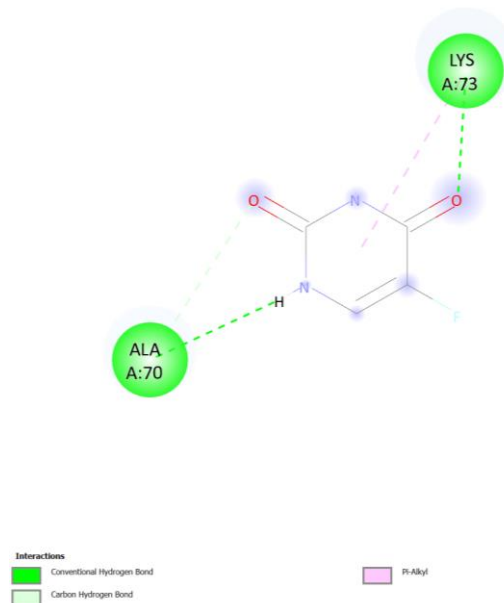
##### 4.1.6.1. Visualisasi 2 Dimensi

Selanjutnya dilakukan docking dengan menggunakan ligan *Indole-3-Carbinol* yang didocking dengan protein yaitu *MYCBP*. Pada visualisasi 2 Dimensi didapatkan 4 ikatan. Terdiri dari 1 ikatan hidrogen yaitu pada posisi LEU 86. Terdapat 3 ikatan lainnya yaitu pada posisi LEU 90, posisi TYR 9 dan posisi LYS 89.



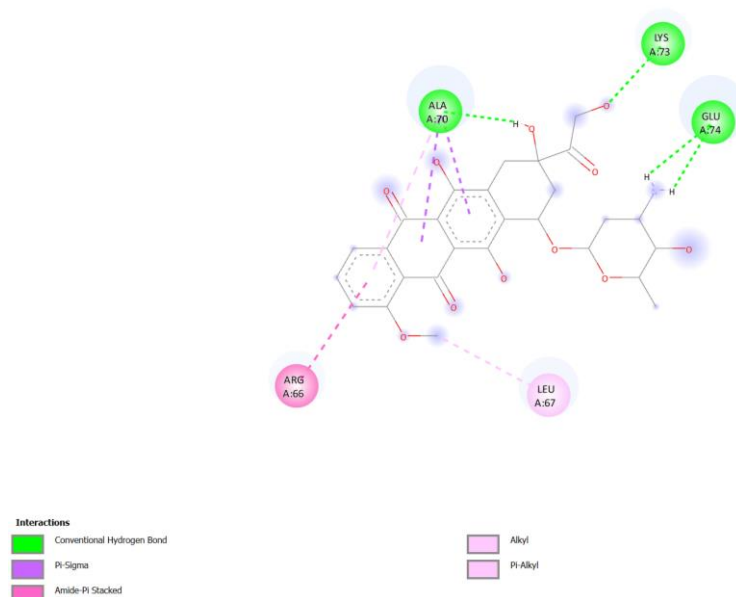
Gambar 4.9. Visualisasi 2D *Indole-3-Carbinol* dengan protein *MYCBP*

Dilakukan juga docking pembandingan ditambahkan senyawa obat konvensional kanker serviks yakni *5-Fluorouracil* dan *doxorubicin* yang di docking dengan protein yang sama yaitu *MYCBP*. Pertama akan didocking terlebih dahulu ligan *5-Fluorouracil*.



Gambar 4.10. Visualisasi 2D 5-Fluorouracil dengan protein *MYCBP*

Visualisasi 2 dimensi dari *MYCBP* dengan 5- *Fluorouracil* didapatkan 1 ikatan hidrogen yaitu pada posisi ALA 70. Terdapat 1 ikatan lainnya yaitu pada posisi LYS 73. Selanjutnya dilakukan docking dengan *doxorubicin*.



Gambar 4.11. Visualisasi 2D *Doxorubicin* dengan protein *MYCBP*

Visualisasi 2 dimensi antara *MYCBP* dan *Doxorubicin* didapatkan 5 ikatan. Terdiri dari 3 ikatan hidrogen yaitu terdapat 2 ikatan pada posisi GLU 74 dan 1 ikatan pada posisi ALA 70. Selain itu terdapat 3 ikatan lain yaitu ikatan pada posisi LEU 67, posisi ARG 66 dan pada posisi LYS 73.

Tabel 4.4. Residu Asam Amino *MYCBP* Q99417 pada Senyawa *Indole-3-Carbinol*

Protein	<i>Bioactive Compound</i>	<i>Amino Acid Residue Q9Y6M1</i>			
		LEU 86	LYS 89	LEU 90	TYR 93
Q99417	<i>Indole-3-Carbinol</i>	✓			
	Total	1			

Tabel 4.5. Residu Asam Amino *MYCBP* Q99417 pada Senyawa *5-Fluorouracil*

Protein	<i>Bioactive Compound</i>	<i>Amino Acid Residue Q9Y6M1</i>	
		ALA 70	LYS 73
Q99417	<i>5-Fluorouracil</i>	✓	
	Total	1	

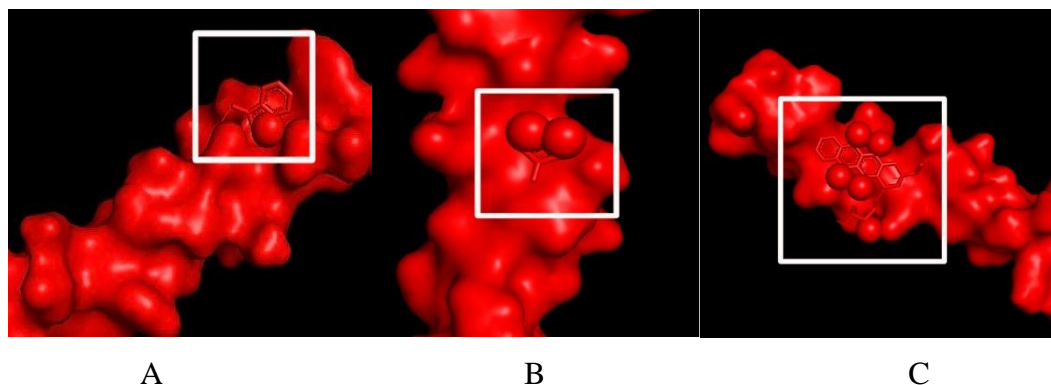
Tabel 4.6. Residu Asam Amino *MYCBP* Q99417 pada Senyawa *Doxorubicin*

Protein	<i>Bioactive Compound</i>	<i>Amino Acid Residue Q9Y6M1</i>			
		GLU 74	ALA 70	LYS 73	ARG 66 LEU 67
Q99417	<i>Doxorubicin</i>				
	Total	2	1		

Berdasarkan tabel residu asam amino diatas didapatkan senyawa *Indole-3-Carbinol* yang didocking dengan protein *MYCBP* mempunyai jumlah 1 asam amino. Senyawa *5-Fluorouracil* memiliki jumlah 1 asam amino dan senyawa *Doxorubicin* memiliki jumlah 2 asam amino.

#### 4.1.6.2. Visualisasi 3 Dimensi

Setelah dilakukan visualisasi 2 Dimensi untuk mengetahui perlekatan antara protein dan ligan maka diperlukan konfirmasi dengan pembuatan visualisasi 3 Dimensi. Berikut gambar hasil visualisasi yang dilakukan dengan menggunakan protein *MYCBP* yang di docking dengan ligan *Indole-3-Carbinol* dengan menambahkan ligan pembanding dari obat konvensional terapi kanker serviks yaitu *5-Fluorouracil* dan *doxorubicin*.



Gambar 4.12. Visualisasi 3D Protein *MYCBP*

(A) *MYCBP* dengan *Indole-3-Carbinol*, (B) *MYCBP* dengan *5-Fluorouracil*, (C) *MYCBP* dengan *Doxorubicin*

Visualisasi 3 Dimensi dilakukan pada protein *MYCBP* dengan ligan *Indole-3-Carbinol* yang dibandingkan dengan ligan *5-Fluorouracil* dan *Doxorubicin*.

#### 4.1.7. Druglikeness

Druglikeness dilakukan untuk melihat kemiripan obat antara senyawa yang digunakan dengan senyawa obat kanker konvensional. Prediksi druglikeness menggunakan website database ProTox-II (<https://tox-new.charite.de/>). Prinsip yang digunakan dalam druglikeness adalah lipinski rule of five, yang menyatakan bahwa berat molekul kurang dari 500, hydrogen bond acceptor kurang dari 10, hydrogen bond donor kurang dari 5 dan logP kurang dari 5.

Tabel 4.7. Druglikeness

No	Compound	Molecular Weight g/mol	Hydrogen Bond Acceptor	Hydrogen Bond Donor	Log P
1.	<i>Indole3Carbinol</i>	147.07	10	2	1.390
2.	<i>5-Fluorouracil</i>	130.020	4	2	-0.773
3.	<i>Doxorubicin</i>	543.52	12	6	2.012

Prediksi dilakukan dengan mencari senyawa berdasarkan Isometric SMILES. Isometric SMILES untuk senyawa *Indole-3-Carbinol* adalah C1=CC=C2C(=C1)C(=CN2)CO. Isometric SMILES senyawa *5-Fluorouracil* adalah C1=C(C(=O)NC(=O)N1)F. Isometric SMILES senyawa *Doxorubicin* adalah C[C@H]1[C@H]([C@H](C[C@@H](O1)O[C@H]2C[C@@](CC3=C2C(=C4C(=C3O)C(=O)C5=C(C4=O)C(=CC=C5)OC)O)(C(=O)CO)O)N.

#### 4.1.8. Prediksi ADME

Prediksi ADME (Absorption, Distribution, Metabolism, and Excretion) merupakan metode yang digunakan dalam penelitian obat untuk memprediksi sifat-sifat farmakokinetik suatu senyawa, seperti kemampuan penyerapan, distribusi, metabolisme, dan ekskresi. Metode ini dapat membantu dalam mengevaluasi potensi suatu senyawa untuk dikembangkan sebagai obat, serta memperkirakan dosis yang aman dan efektif untuk manusia.

Tabel 4.8. Uji Farmakokinetik

No	Compound	GI Absorption	BBB Permeant	CYP 1A2	CYP 2C19	CYP 2C9	CYP 2D6	CYP 3A4
1.	<i>Indole3Carbinol</i>	Tinggi	Iya	Iya	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
2.	<i>5-Fluorouracil</i>	Tinggi	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak
3.	<i>Doxorubicin</i>	Rendah	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak

Pertama adalah melakukan prediksi berdasarkan farmakokinetik dari senyawa *Indole-3-Carbinol* yang dibandingkan dengan senyawa *5-Fluorouracil* dan *Doxorubicin*. Ada beberapa hal yang diperhatikan yaitu GI Absorption yaitu kemampuan senyawa untuk diserap melalui saluran pencernaan. BBB (Blood-Brain Barrier) adalah kemampuan sebuah obat untuk menembus sawar darah otak. CYP (Cytochrome) adalah enzim inhibisi suatu obat, semakin banyak enzim yang terhambat oleh cytochrome maka efektivitas suatu obat untuk diserap oleh tubuh semakin sedikit.

Tabel 4.9. Uji Toksisitas

No	Compound	AMES	Oral	Karsinogen	Respirasi	LC50 FM	LC50 DM	Lipinski
1.	<i>Indole-3-Carbinol</i>	--	+++	--	+	3.815	4.78	Diterima
2.	<i>5-Fluorouracil</i>	---	+++	---	---	2.630	4.639	Diterima
3.	<i>Doxorubicin</i>	+++	--	+++	++	4.976	6.859	Ditolak

Selanjutnya dilakukan prediksi toksisitas dari senyawa yang digunakan. Prediksi toksisitas bertujuan untuk mengevaluasi senyawa yang digunakan apakah memberikan efek samping toksik bagi tubuh. Beberapa parameter prediksi toksisitas yaitu: AMES bertujuan untuk mengevaluasi potensi mutagenik suatu senyawa. Oral toksisitas adalah kemampuan suatu senyawa untuk menyebabkan efek samping toksik apabila dikonsumsi secara oral.

Respiratory toksisitas adalah kemampuan senyawa menyebabkan efek samping toksis apabila terhirup melalui respirasi track. Carcinogen toksisitas adalah kemampuan senyawa menyebabkan kanker. LC50 adalah nilai konsentrasi yang menyebabkan kematian pada 50% hewan coba, semakin rendah nilai LC50 maka semakin toksis suatu zat tersebut. Lc50FM (Fathead Minnow) adalah uji coba dengan ikan air tawar, 50% kematian didapatkan dalam 96 jam. Sedangkan LCDM (*Daphnia Magna*) adalah uji coba dengan menggunakan krustasea planktonik kecil, 50% kematian didapatkan dalam 48 jam.

Lipinski atau 5 aturan lipinski bertujuan untuk memprediksi suatu senyawa yang akan di absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi oleh tubuh. Aturan ini berguna untuk menilai kesempurnaan senyawa dari suatu obat yang akan dikembangkan menjadi obat-obatan. Serta mengevaluasi apakah senyawa tersebut memiliki potensi menjadi obat yang efektif dan aman bagi tubuh.

Tabel 4.10. *Binding Energy* Protein IGF2BP2

No	<i>Bioactive Compound</i>	<i>Binding Energy</i>	<i>Inhibition Constant</i>
1	<i>Indole-3-Carbinol</i>	-3.20 kcal/mol	4.50 uM
2	<i>5-Fluorouracil</i>	-3.08 kcal/mol	5.55 uM
3.	<i>Doxorubicin</i>	-6.14 kcal/mol	31.45 uM

Tabel

4.11.

No	<i>Bioactive Compound Name</i>	<i>Binding Energy</i>	<i>Inhibition Constant</i>
1	<i>Indole-3-Carbinol</i>	-5.75 kcal/mol	61.23 uM
2	<i>5-Fluorouracil</i>	-4.45 kcal/mol	549.10 uM
3.	<i>Doxorubicin</i>	-6.90 kcal/mol	8.72 uM

*Binding Energy* Protein MYCBP

Binding energy berfungsi untuk memprediksi afinitas antara senyawa dan protein target. Binding energy dapat dihitung untuk menentukan seberapa kuat senyawa tertentu berikatan dengan protein target. Nilai binding energy yang lebih rendah atau semakin rendah menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki afinitas yang lebih tinggi terhadap protein target, dan dapat menjadi kandidat obat yang potensial. Konstanta inhibisi (KI) adalah ukuran

kekuatan penghambatan suatu senyawa terhadap aktivitas enzim atau reseptor. Semakin rendah nilai KI, maka semakin kuat penghambatan senyawa terhadap enzim atau reseptor tersebut.

## 4.2. Pembahasan

Kanker serviks adalah kanker yang disebabkan oleh Human Papilloma Virus (HPV) tipe 16 dan tipe 18 yang dapat mengganggu kadar intake glukosa sebagai bahan makanannya (efek warburg). Mekanisme ini akan mempengaruhi dari proliferasi dari sel kanker serviks, sehingga diperlukan penelitian lebih lanjut dengan memfokuskan protein target pada efek warburg tersebut. Protein target yang memainkan peran penting dalam hal ini adalah IGF2BP2 (*Insulin-like Growth Factor 2 mRNA Binding Protein 2*) dan MYCBP (*MYCBP-Binding Protein*).<sup>47,48</sup>

Dengan dilakukannya uji in siliko banyak informasi yang akan didapatkan berguna sebagai pijakan untuk melakukan penelitian lebih dalam dengan kaitannya pada kanker terutama kanker serviks. Uji in siliko dapat memberikan informasi tentang struktur-struktur dari ligan dan protein target baik dalam visualisasi 2 dimensi ataupun visualisasi 3 dimensi sehingga didapatkan hasil pengikatan yang terjadi antara ligan dan protein. Uji in siliko juga memberikan hasil terkait druglikeness dari senyawa-senyawa yang digunakan. Paling terpenting pada uji in siliko memberikan informasi dari absorpsi, distribusi, metabolisme dan ekskresi dari senyawa yang digunakan. Memberikan informasi juga terkait druglikeness dari suatu obat serta toksisitas atau efek samping yang mungkin akan timbul.<sup>49,50</sup>

Struktur senyawa *Indole-3-Carbinol* serta senyawa pembanding yaitu *5-Fluorouracil* dan *Doxorubicin* terkonfirmasi ada dengan melakukan pencarian pada situs web database Pubchem National Library of Medicine (**lampiran 3**). Struktur protein target yang digunakan yaitu IGF2BP2 atau dikenal sebagai Q9Y6M1 dengan struktur yang digunakan yaitu *6ROL* (**lampiran 4**) dan *MYCBP* atau dikenal sebagai Q99417 dengan struktur yang digunakan yaitu 2YY0 (**lampiran 5**) terkonfirmasi juga ada terdaftar dengan melakukan pencarian pada situs database UniProt.

Visualisasi 2 dimensi dilakukan docking pada protein IGF2BP2 dan *MYCBP* dengan ligan *Indole-3-Carbinol* dengan ditambahkan pembanding yaitu *5-Fluorouracil* dan *Doxorubicin*. Pada protein IGF2BP2 yang di docking dengan *Indole-3-carbinol* dengan pembanding *5-Fluorouracil* dan *doxorubicin* didapatkan hasil bahwa *Indole-3-Carbinol* lebih unggul dibandingkan dengan obat standar yaitu *5-Fluorouracil* dimana pada tabel 4.1.



menunjukkan senyawa *Indole-3-carbinol* memiliki 2 ikatan sedangkan pada tabel 4.2. menunjukkan senyawa *5-Fluorouracil* hanya memiliki 1 ikatan. Sehingga hal ini menunjukkan bahwa ikatan senyawa *Indole-3-Carbinol* memiliki ikatan yang lebih kuat jika dibandingkan dengan senyawa *5-Fluorouracil* namun tidak lebih unggul jika dibandingkan dengan senyawa *Doxorubicin* 5 ikatan pada tabel 4.3. Sedangkan pada protein *MYCBP* dengan pembandingan *5-Fluorouracil* dan *Doxorubicin* didapatkan hasil bahwa *Indole-3-Carbinol* memiliki kemiripan dengan obat standar yaitu *5-Fluorouracil* karena pada tabel 4.4. dan 4.5. menunjukkan bahwa sama mempunyai 1 ikatan, namun tidak lebih unggul jika dibandingkan dengan *Doxorubicin* dimana pada tabel 4.6 menunjukkan memiliki 3 ikatan. Maka kesimpulannya jika dibandingkan antara protein IGF2BP2 dengan protein *MYCBP* senyawa *Indole-3-Carbinol* lebih baik berikatan dengan protein IGF2BP2, dan jika dibandingkan dengan obat standar senyawa *Indole-3-Carbinol* sedikit lebih unggul dibandingkan dengan *5-Fluorouracil* dengan fokus protein pada IGF2BP2.<sup>51</sup>

Kesimpulan dari hasil visualisasi 3 Dimensi didapatkan ikatan antara protein dan ligan di celah-celah protein. Ikatan yang terjadi adalah ikatan yang kuat karena berdasarkan sifat dari protein adalah *active binding site* yang banyak diantara celah protein, *active binding site* yang saling berikatan satu protein satu dengan lainnya ini akan membentuk ikatan yang kuat. Dari ketiga senyawa tersebut senyawa *indole-3-carbinol* berikatan ditengah celah-celah protein IGF2BP2 jika dibandingkan dengan senyawa *5-Fluorouracil* terlihat bahwa masih ada bagian senyawa yang tidak berikatan pada protein sehingga senyawa *Indole-3-Carbinol* memiliki potensi lebih baik sebagai kandidat terapi kanker serviks dibandingkan dengan senyawa *5-Fluorouracil*. Dengan demikian, visualisasi 3D dalam uji in siliko memainkan peran penting dalam memahami interaksi antara ligan dan reseptor, serta dapat memberikan wawasan yang penting dalam pengembangan senyawa farmakologis.<sup>52</sup>

Parameter yang digunakan pada uji druglikeness adalah berat molekular, hydrogen bond acceptor, hydrogen bond donor, serta logP. Berdasarkan aturan 5 lipinski berat molekular senyawa tidak boleh lebih dari 500 Da, Hydrogen Bond Acceptor tidak lebih dari 10, Hydrogen Bond Donor tidak lebih dari 5 dan logP tidak lebih dari 5. Berdasarkan tabel 4.7. dapat didapatkan bahwa senyawa *Indole-3-Carbinol* memenuhi semua kriteria dari 5 aturan lipinski. Jika dibandingkan dengan obat standar *Doxorubicin* didapatkan pada berat molekular dan hydrogen bond acceptor serta hydrogen bond donor tidak memenuhi kriteria 5 aturan lipinski. Ikatan bond aseptor dan bond donor akan mempengaruhi dari proses absorpsi dari senyawa. Jika ikatan bond donor dan bond aseptor terlalu besar akan membutuhkan energi yang lebih besar sehingga dapat membuat lambat dari senyawa mencapai dari target

protein. Suatu senyawa akan lebih sulit di absorpsi dalam tubuh dan mempunyai permeabilitas yang jelek jika melanggar 5 aturan dari Lipinski<sup>53</sup>. Lipinski menjelaskan bahwa logP adalah suatu nilai yang berkaitan dengan hidrofobisitas atau lipofilik dari suatu senyawa. Jika nilai logP terlalu besar maka akan menyebabkan toksik lebih tinggi. Namun apabila nilai logP terlalu kecil hingga menuju minus juga tidak baik karena molekul senyawa tidak dapat melewati membran dari lipid bilayer sehingga akan cepat berikatan dengan pelarut air<sup>54</sup>. Maka dapat disimpulkan berdasarkan druglikeness senyawa *Indole-3-Carbinol* lebih unggul dibandingkan obat standar yaitu *5-Fluorouracil* dan *Doxorubicin*, hal ini menunjukkan bahwa senyawa *Indole-3-Carbinol* memiliki potensi tinggi sebagai obat antikanker<sup>55</sup>.

Prediksi ADME atau absorption, Distribution Metabolism and Excretion diperlukan untuk melihat apakah senyawa yang digunakan aman bagi tubuh. Pertama adalah melakukan uji farmakokinetik. Pada uji farmakokinetik ada beberapa parameter yang dilihat yaitu absorpsi pada gastrointestinal, sawar darah otak dan inhibisi dari CYP. Cytochrome atau CYP berdasarkan aturan lipinski tidak boleh lebih dari 2 yang terinhibisi. Pada tabel 4.8 pada uji dapat disimpulkan bahwa senyawa *Indole-3-Carbinol* dapat di absorpsi dengan baik ada gastrointestinal hal ini menunjukkan bahwa dapat dibuatkan dalam sediaan oral. Berdasarkan inhibisi CYP memang senyawa *Indole-3-Carbinol* terinhibisi 1 dari 5 CYP, akan tetapi hal ini masih dalam batas normal dimana berdasarkan aturan lipinski inhibisi CYP tidak boleh lebih dari 2 yang terinhibisi<sup>49</sup>. Pada tabel 4.9 dilakukan uji toksisitas, senyawa *Indole-3-Carbinol* tidak menyebabkan karsinogen jika dibandingkan *Doxorubicin* yang cenderung bersifat karsinogen. Kesimpulan berdasarkan aturan lipinski senyawa *Indole-3-Carbinol* diterima sedangkan obat standar yaitu *Doxorubicin* ditolak. Prediksi ADME senyawa *Indole-3-Carbinol* dapat dilihat pada **(lampiran 6)**. Prediksi ADME senyawa *5-Fluorouracil* dapat dilihat pada **(lampiran 7)**. Prediksi ADME senyawa *Doxorubicin* dapat dilihat pada **(lampiran 8)**.<sup>56,57</sup>

Nilai binding energy negatif menunjukkan bahwa selama proses pembentukan ikatan, tidak diperlukan energi dari lingkungan, sehingga semakin kecil atau negatif nilai binding energy, maka afinitas ligan dan protein semakin baik atau ikatan yang dibentuk semakin stabil/kuat. Nilai binding energy dipengaruhi oleh terbentuknya ikatan hidrogen antara ligan dengan reseptor. Semakin banyak ikatan hidrogen, akan menaikkan kestabilan dari suatu kompleks, sehingga nilai binding energy semakin rendah dan kompleks yang terbentuk semakin stabil. Binding energy pada tabel 4.10 dan 4.11. yang pada protein IGF2BP2 dan *MYCBP* menunjukkan nilai pada *Indole-3-Carbinol* memiliki nilai *binding*

*energy* yang lebih baik dibandingkan dengan senyawa *5-Fluorouracil* namun tidak lebih baik dibandingkan dengan *Doxorubicin*.<sup>58</sup>

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan tentang hubungan pemberian *Indole-3-Carbinol* daun kale (*Brassica oleracea L*) terhadap efek Warburg kanker serviks dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Terdapat potensi senyawa *Indole-3-Carbinol* Daun Kale (*Brassica oleracea L*) terhadap kejadian kanker serviks tertarget protein IGF2BP2.
2. Terdapat potensi senyawa *Indole-3-Carbinol* Daun Kale (*Brassica oleracea L*) terhadap kejadian kanker serviks tertarget protein MYCBP.
3. Pada uji in siliko didapatkan senyawa *Indole-3-Carbinol* telah memenuhi semua 5 aturan lipinski sehingga dapat disimpulkan bahwa senyawa *Indole-3-Carbinol* daun Kale berpotensi tinggi sebagai kandidat terapi kanker serviks.
4. Berdasarkan prediksi ADME-Tox senyawa *Indole-3-Carbinol* daun Kale dibandingkan dengan kontrol positif obat standar yaitu *5-Fluorouracil* dan *Doxorubicin*, senyawa *Indole-3-Carbinol* memiliki potensi lebih baik jika dibandingkan dengan senyawa *5-Fluorouracil* namun tidak lebih baik jika dibandingkan dengan senyawa *Doxorubicin*.

#### 5.2. Saran

1. Penelitian selanjutnya sebaiknya menambahkan lebih banyak ligan sehingga tidak hanya terfokus kepada satu ligan saja.
2. Menambahkan lebih banyak protein target sehingga tidak hanya dari efek Warburg saja.
3. Penelitian ini diharapkan dapat menjadi pijakan untuk melanjutkan ke penelitian lebih lanjut terkhusus dengan menggunakan uji in vitro maupun in vivo sehingga lebih teruji efektivitas senyawa *Indole-3-Carbinol* daun Kale sebagai kandidat terapi kanker serviks.

## REFERENSI

1. World Health Organization. *Global Strategy to Accelerate the Elimination of Cervical Cancer as a Public Health Problem and Its Associated Goals and Targets for the Period 2020 – 2030*. Vol 2.; 2020.
2. Sutnick AI, Gunawan S. Cancer in Indonesia. *JAMA J Am Med Assoc*. 2020;247(22):3087-3088. doi:10.1001/jama.247.22.3087
3. Shamseddine AA, Burman B, Lee NY, Zamarin D, Riaz N. Tumor immunity and immunotherapy for HPV-related cancers. *Cancer Discov*. 2021;11(8):1896-1912. doi:10.1158/2159-8290.CD-20-1760
4. Hu C, Liu T, Han C, et al. HPV E6/E7 promotes aerobic glycolysis in cervical cancer by regulating IGF2BP2 to stabilize m6A-MYC expression. *Int J Biol Sci*. 2022;18(2):507-521. doi:10.7150/ijbs.67770
5. Liberti M V, Locasale JW. The Warburg Effect: How Does it Benefit Cancer Cells? (vol 41, pg 211, 2016). *Trends Biochem Sci*. 2016;41(3):211. doi:10.1016/j.tibs.2015.12.001.The
6. Pascale RM, Calvisi DF, Simile MM, Feo CF, Feo F. The warburg effect 97 years after its discovery. *Cancers (Basel)*. 2020;12(10):1-33. doi:10.3390/cancers12102819
7. Boese AC, Kang S. Mitochondrial metabolism-mediated redox regulation in cancer progression. *Redox Biol*. 2021;42:101870. doi:10.1016/j.redox.2021.101870
8. Qi Y, Zhang C, Wu D, Zhang Y, Zhao Y, Li W. Indole-3-Carbinol Stabilizes p53 to Induce miR-34a, Which Targets LDHA to Block Aerobic Glycolysis in Liver Cancer Cells. *Pharmaceuticals*. 2022;15(10). doi:10.3390/ph15101257
9. Popolo A, Pinto A, Daglia M, Nabavi SF, Farooqi AA, Rastrelli L. Two likely targets for the anti-cancer effect of indole derivatives from cruciferous vegetables: PI3K/Akt/mTOR signalling pathway and the aryl hydrocarbon receptor. *Semin Cancer Biol*. 2017;46(May):132-137. doi:10.1016/j.semcancer.2017.06.002
10. Chamovitz DA, Katz E, Nisani S. Indole-3-carbinol: A plant hormone combatting cancer [version 1; referees: 2 approved]. *F1000Research*. 2018;7(0):1-9. doi:10.12688/f1000research.14127.1

11. Biersack B. 3,3'-Diindolylmethane and its derivatives: Nature-inspired strategies tackling drug resistant tumors by regulation of signal transduction, transcription factors and microRNAs. *Cancer Drug Resist.* 2020;3(4):867-878. doi:10.20517/cdr.2020.53
12. Rinata E. *Buku Ajar Genetika Dan Biologi Reproduksi.*; 2020. doi:10.21070/2020/978-623-6833-96-4
13. Cancer Research UK. About cervical cancer | Cancer Research UK. *Cancer Res UK.* Published online 2021. <https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/cervical-cancer/about>
14. Thompson L. The Uterus - Structure - Location - Vasculature - TeachMeAnatomy. *Teachmeanatomy.info.* Published online 2019. <https://teachmeanatomy.info/pelvis/female-reproductive-tract/uterus/>
15. Fadare O, Roma AA. Normal Anatomy of the Uterine Cervix. Published online 2019:193-196. doi:10.1007/978-3-030-17931-1\_8
16. Cervix | Female Reproductive System. <https://histologyguide.com//slideview/MHS-207-cervix/18-slide-1.html?x=52640&y=41087&z=50.0>
17. Kemenkes RI. Hasil Riset Kesehatan Dasar Tahun 2018. *Kementrian Kesehat RI.* 2018;53(9):1689-1699.
18. Olusola P, Banerjee HN, Philley J V., Dasgupta S. Human papilloma virus-associated cervical cancer and health disparities. *Cells.* 2019;8(6):14-16. doi:10.3390/cells8060622
19. Globocan. Cancer Today. *Int Agency Res.* 2020;418:1-2. <https://gco.iarc.fr/today/data-sources-methods>
20. Heryani R. Hubungan Pengetahuan Wanita Terhadap Pemeriksaan Papsmear Di Wilayah Puskesmas Garuda Kota Pekanbaru. *J Endur.* 2018;3(3):596. doi:10.22216/jen.v3i3.3451
21. Wahidin M, Febrianti R, Susanty F. Burden of Cervical Cancer in Indonesia: Findings From the Global Burden of Disease Study 1990–2017. 2020;22(Ishr 2019):213-217. doi:10.2991/ahsr.k.200215.040
22. Johnson CA, James D, Marzan A, Armaos M. Cervical Cancer: An Overview of

- Pathophysiology and Management. *Semin Oncol Nurs.* 2019;35(2):166-174. doi:10.1016/j.soncn.2019.02.003
23. Jain MA, Limaiem F. Cervical Squamous Cell Carcinoma. In: StatPearls; 2023.
  24. Manzo-Merino J, Massimi P, Lizano M, Banks L. The human papillomavirus (HPV) E6 oncoproteins promotes nuclear localization of active caspase 8. *Virology.* 2014;450-451:146-152. doi:10.1016/j.virol.2013.12.013
  25. Pal A, Kundu R. Human Papillomavirus E6 and E7: The Cervical Cancer Hallmarks and Targets for Therapy. *Front Microbiol.* 2020;10(January). doi:10.3389/fmicb.2019.03116
  26. Bedell SL, Goldstein LS, Goldstein AR, Goldstein AT. Cervical Cancer Screening: Past, Present, and Future. *Sex Med Rev.* 2020;8(1):28-37. doi:10.1016/j.sxmr.2019.09.005
  27. WHO. Comprehensive Cervical Cancer Control. *Geneva.* Published online 2014:366-378.
  28. Zhang S, Xu H, Zhang L, Qiao Y. Cervical cancer: Epidemiology, risk factors and screening. *Chinese J Cancer Res.* 2020;32(6):720-728. doi:10.21147/j.issn.1000-9604.2020.06.05
  29. Singh N, Rous B, Ganesan R. BAGP Information document: 2018 FIGO staging System for Cervix Cancer, version 1.2. 2019;(February 2019).
  30. Gyamfi J, Kim J, Choi J. Cancer as a Metabolic Disorder. *Int J Mol Sci.* 2022;23(3):1-18. doi:10.3390/ijms23031155
  31. Li B, Sui L. Metabolic reprogramming in cervical cancer and metabolomics perspectives. *Nutr Metab.* 2021;18(1):1-14. doi:10.1186/s12986-021-00615-7
  32. Cai M, Wan J, Cai K, et al. Understanding the Contribution of Lactate Metabolism in Cancer Progress: A Perspective from Isomers. *Cancers (Basel).* 2023;15(1):1-28. doi:10.3390/cancers15010087
  33. Bose S, Zhang C, Le A. Glucose Metabolism in Cancer: The Warburg Effect and Beyond. *Adv Exp Med Biol.* 2021;1311:3-15. doi:10.1007/978-3-030-65768-0\_1
  34. Fan T, Sun G, Sun X, Zhao L, Zhong R. Tumor Energy Metabolism and Potential of 3-

- Bromopyruvate as an Inhibitor of Aerobic Glycolysis: Implications in Tumor Treatment. Published online 2019. doi:10.3390/cancers11030317
35. The Journal of Physiology - 2020 - Kierans - Regulation of glycolysis by the hypoxia-inducible factor HIF implications.pdf. doi:https://doi.org/10.1113/JP280572
  36. Ramirez D, Abellán-Victorio A, Beretta V, Camargo A, Moreno DA. Functional ingredients from brassicaceae species: Overview and perspectives. *Int J Mol Sci.* 2020;21(6). doi:10.3390/ijms21061998
  37. Giorgetti L, Giorgi G, Cherubini E, et al. Screening and identification of major phytochemical compounds in seeds, sprouts and leaves of Tuscan black kale *Brassica oleracea* (L.) ssp *acephala* (DC) var. *sabellica* L. *Nat Prod Res.* 2018;32(14):1617-1626. doi:10.1080/14786419.2017.1392953
  38. Centofanti F, Buono A, Verboni M, et al. Synthetic Methodologies and Therapeutic Potential of Indole-3-Carbinol (I3C) and Its Derivatives. *Pharmaceuticals.* 2023;16(2). doi:10.3390/ph16020240
  39. Zhang M, Liang L, He J, et al. Fra-1 Inhibits Cell Growth and the Warburg Effect in Cervical Cancer Cells via STAT1 Regulation of the p53 Signaling Pathway. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8(September):1-15. doi:10.3389/fcell.2020.579629
  40. Wei Q. Bioinformatical identification of key genes regulated by IGF2BP2-mediated RNA N6-methyladenosine and prediction of prognosis in hepatocellular carcinoma. *J Gastrointest Oncol.* 2021;12(4):1773-1785. doi:10.21037/jgo-21-306
  41. Latifkar A, Wang F, Mullmann JJ, et al. IGF2BP2 promotes cancer progression by degrading the RNA transcript encoding a v-ATPase subunit. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2022;119(45). doi:10.1073/pnas.2200477119
  42. Miller DM, Thomas SD, Islam A, Muench D, Sedoris K. MYCBP and cancer metabolism. *Clin Cancer Res.* 2012;18(20):5546-5553. doi:10.1158/1078-0432.CCR-12-0977
  43. Huang S, Wu Z, Cheng Y, Wei W, Hao L. Insulin-like growth factor 2 mRNA binding protein 2 promotes aerobic glycolysis and cell proliferation in pancreatic ductal adenocarcinoma via stabilizing GLUT1 mRNA. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai).* 2019;51(7):743-752. doi:10.1093/abbs/gmz048



44. Wang J, Chen L, Qiang P. The role of IGF2BP2, an m6A reader gene, in human metabolic diseases and cancers. *Cancer Cell Int.* 2021;21(1):1-11. doi:10.1186/s12935-021-01799-x
45. Goetzman ES, Prochownik E V. The role for myc in coordinating glycolysis, oxidative phosphorylation, glutaminolysis, and fatty acid metabolism in normal and neoplastic tissues. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2018;9(APR). doi:10.3389/fendo.2018.00129
46. Cargill KR, Stewart CA, Park EM, et al. Targeting MYC-enhanced glycolysis for the treatment of small cell lung cancer. *Cancer Metab.* 2021;9(1):1-16. doi:10.1186/s40170-021-00270-9
47. Zeng Q, Zhao RX, Chen J, et al. O-linked GlcNAcylation elevated by HPV E6 mediates viral oncogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2016;113(33):9333-9338. doi:10.1073/pnas.1606801113
48. Ji F, Lu Y, Chen S, et al. IGF2BP2-modified circular RNA circARHGAP12 promotes cervical cancer progression by interacting m6A/FOXM1 manner. *Cell Death Discov.* 2021;7(1):1-9. doi:10.1038/s41420-021-00595-w
49. Ekins S, Mestres J, Testa B. In silico pharmacology for drug discovery: Applications to targets and beyond. *Br J Pharmacol.* 2007;152(1):21-37. doi:10.1038/sj.bjp.0707306
50. Pope DJ, Fryer R, Masouros SD. In Silico Models. *Blast Inj Sci Eng A Guid Clin Res Second Ed.* 2023;(January):279-284. doi:10.1007/978-3-031-10355-1\_28
51. Casini A, Scozzafava A, Supuran CT. Cysteine-modifying agents: A possible approach for effective anticancer and antiviral drugs. *Environ Health Perspect.* 2002;110(SUPPL. 5):801-806. doi:10.1289/ehp.02110s5801
52. Liao J, Wang Q, Wu F, Huang Z. *In Silico Methods for Identification of Potential Active Sites of Therapeutic Targets.* Vol 27.; 2022. doi:10.3390/molecules27207103
53. Drwal MN, Banerjee P, Dunkel M, Wettig MR, Preissner R. ProTox: A web server for the in silico prediction of rodent oral toxicity. *Nucleic Acids Res.* 2014;42(W1):53-58. doi:10.1093/nar/gku401
54. El-Din HMA, Loutfy SA, Fathy N, et al. Molecular docking based screening of compounds against VP40 from Ebola virus. *Bioinformation.* 2016;12(3):192-196.

doi:10.6026/97320630012192

55. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev.* 2012;64(SUPPL.):4-17. doi:10.1016/j.addr.2012.09.019
56. Domínguez-Villa FX, Durán-Iturbide NA, Ávila-Zárraga JG. Synthesis, molecular docking, and in silico ADME/Tox profiling studies of new 1-aryl-5-(3-azidopropyl)indol-4-ones: Potential inhibitors of SARS CoV-2 main protease. *Bioorg Chem.* 2021;106(November). doi:10.1016/j.bioorg.2020.104497
57. Guttman Y, Kerem Z. Computer-Aided (In Silico) Modeling of Cytochrome P450-Mediated Food–Drug Interactions (FDI). *Int J Mol Sci.* 2022;23(15). doi:10.3390/ijms23158498
58. Puspita P, Liliyani N, Ambarsari L. In Silico Analysis of Active Compounds of Avocado Fruit (*Persea americana* Mill.) as Tyrosinase Enzyme Inhibitors. *Curr Biochem.* 2022;9(2):73-87.

## LAMPIRAN

## Lampiran 1. Surat Permohonan Izin Penelitian



MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI PENELITIAN & PENGEMBANGAN PIMPINAN PUSAT MUHAMMADIYAH  
**UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA**  
**FAKULTAS KEDOKTERAN**

UMSU Terakreditasi A Berdasarkan Keputusan Badan Akreditasi Nasional Perguruan Tinggi No. 89/SK/BAN-PT/Akred/PT/III/2019  
 Jl. Gedung Arca No. 53 Medan, 20217 Telp. (061) - 7350163, 7333162, Fax. (061) - 7363488  
<https://fk.umsu.ac.id> [fk@umsu.ac.id](mailto:fk@umsu.ac.id) [umsu.medan](https://www.facebook.com/umsu.medan) [umsu.medan](https://www.instagram.com/umsu.medan) [umsu.medan](https://www.youtube.com/umsu.medan) [umsu.medan](https://www.linkedin.com/umsu.medan)

Nomor : 919/IL.3.AU/UMSU-08/F/2023  
 Lampiran : -  
 Perihal : **Permohonan Izin Penelitian**

Medan, 05 Dzulhijjah 1444 H  
 23 Juni 2023 M

Kepada Yth.  
**Kepala Laboratorium Herbarium Medanense (MEDA)**  
**Universitas Sumatera Utara**  
 di-  
 Tempat

*Assalamu 'alaikum warahmatullahi wabarakatuh*

Dengan hormat, teriring salam dan do'a kami sampaikan semoga Bapak/Ibu berada dalam keadaan sehat wal'afiat, serta senantiasa sukses dalam menjalankan tugas sehari-hari.

Sehubungan dengan proses penelitian pada Program Kretifitas Mahasiswa (PKM) Tahun 2023, maka kami bermaksud mengajukan permohonan izin untuk melakukan penelitian di Laboratorium Herbarium Medanense (MEDA) USU, dengan judul penelitian "**Modulasi Efek Warburg pada Kanker Serviks dengan Pemberian Indole-3-Carbinol Daun Kale (Brassica oleracea var. sabellica): Pengamatan In Siliko dan In Vitro**"

Penelitian ini dilaksanakan oleh Mahasiswa FK UMSU sebagai berikut :

No	Nama	NPM	Jabatan
1.	Farhan Abdullah Rizal	2008260198	Ketua
2.	Dandi Dzaki Muzhaffar	2008260244	Anggota
3.	Ali Akbar Ridwan	2108260253	Anggota
4.	Putri Windi Salehah Meureksa	2108260015	Anggota
5.	Berkah Tania Sawitri Pasaribu	2108260112	Anggota

No	Nama	NIP/NIDN	Keterangan
1.	Dr. dr. Humairah Medina Liza Lubis, M.Ked.(PA), Sp.PA	197407152008012003/ 0115077401	Dosen Pendamping

Selanjutnya kami bermaksud mengajukan permohonan izin agar Mahasiswa tersebut di atas dapat melakukan penelitian di Laboratorium Laboratorium Herbarium Medanense (MEDA) USU.

Demikian permohonan ini kami sampaikan, atas perhatian serta kerjasamanya kami ucapkan terima kasih.

*Wassalamu 'alaikum warahmatullahi wabarakatuh*



Dekan,  
  
**Dr. Siti Masluma Siregar, Sp.THT-KL(K)**  
 NIDN: 0106098201

Tembusan:  
 1. Wakil Dekan I dan III;  
 2. Peringatan



## Lampiran 2 : Hasil Identifikasi dari Daun Kale



**LABORATORIUM SISTEMATIKA TUMBUHAN  
HERBARIUM MEDANENSE  
(MEDA)**

**UNIVERSITAS SUMATERA UTARA**

Jl. Bioteknologi No.1 Kampus USU, Medan – 20155  
Telp. 061 – 8223564 Fax. 061 – 8214290 E-mail.nursaharapasaribu@yahoo.com

Medan, 26 Juni 2023

No. : 1225/MEDA/2023  
Lamp. : -  
Hal : Hasil Identifikasi

Kepada YTH,

No.	Nama	NIM
1.	Farhan Abullah Rizal	2008260198
2.	Dandi Dzaki Muzhaffar	2008260244
3.	Ali Akbar Ridwan	2108260253
4.	Putri Windi Salehah Meureksa	2108260015
5.	Berkah Tania Sawitri Pasaribu	2108260112

Instansi : Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

Dengan hormat,

Bersama ini disampaikan hasil identifikasi tumbuhan yang saudara kirimkan ke Herbarium Medanense, Universitas Sumatera Utara, sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
Divisi : Spermatophyta  
Kelas : Dicotyledoneae  
Ordo : Brassicales  
Famili : Brassicaceae  
Genus : Brassica  
Spesies : *Brassica oleracea* L.  
Nama Lokal: Daun Kale

Demikian, semoga berguna bagi saudara.

Kepala Herbarium Medanense.

Dr. Etti Sartina Siregar S.Si., M.Si.  
NIP. 197211211998022001

## Lampiran 3. Struktur Senyawa Indole-3-Carbinol, 5-Fluorouracil dan Doxorubicin

An official website of the United States government [Here is how you know](#)

**NIH** National Library of Medicine  
National Center for Biotechnology Information

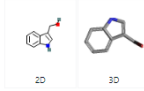
**PubChem** About Docs Submit Contact Search PubChem

COMPOUND SUMMARY

### Indole-3-carbinol


PubChem CID: 3712

**Structure**



2D 3D

**Chemical Safety**



Irritant  
Laboratory Chemical Safety Summary (LCSS) Datasheet

**Molecular Formula**:  $C_9H_9NO$

**Synonyms**: Indole-3-carbinol  
700-06-1

Cite Download

**CONTENTS**

- Title and Summary
- 1 Structures
- 2 Names and Identifiers
- 3 Chemical and Physical Properties
- 4 Spectral Information
- 5 Related Records
- 6 Chemical Vendors
- 7 Drug and Medication Information
- 8 Pharmacology and Biochemistry
- 9 Safety and Hazards
- 10 Toxicity
- 11 Associated Disorders and Diseases
- 12 Literature
- 13 Patents
- 14 Interactions and Pathways
- 15 Biological Test Results

An official website of the United States government [Here is how you know](#)

**NIH** National Library of Medicine  
National Center for Biotechnology Information

**PubChem** About Docs Submit Contact Search PubChem

COMPOUND SUMMARY

### Fluorouracil

PubChem CID: 3385

**Structure**



2D 3D Crystal

**Chemical Safety**



Acute Toxic Irritant Health Hazard  
Laboratory Chemical Safety Summary (LCSS) Datasheet

**Molecular Formula**:  $C_4H_3FN_2O_2$

**Synonyms**: 5-Fluorouracil  
fluorouracil

Cite Download

**CONTENTS**

- Title and Summary
- 1 Structures
- 2 Names and Identifiers
- 3 Chemical and Physical Properties
- 4 Spectral Information
- 5 Related Records
- 6 Chemical Vendors
- 7 Drug and Medication Information
- 8 Pharmacology and Biochemistry
- 9 Use and Manufacturing
- 10 Identification
- 11 Safety and Hazards
- 12 Toxicity
- 13 Associated Disorders and

An official website of the United States government [Here is how you know](#)

**NIH** National Library of Medicine  
National Center for Biotechnology Information

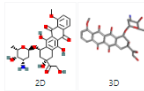
**PubChem** About Docs Submit Contact Search PubChem

COMPOUND SUMMARY

### Doxorubicin


PubChem CID: 31703

**Structure**



2D 3D

**Chemical Safety**



Irritant Health Hazard  
Laboratory Chemical Safety Summary (LCSS) Datasheet

**Molecular Formula**:  $C_{27}H_{29}NO_{11}$

**Synonyms**: doxorubicin

Cite Download

**CONTENTS**

- Title and Summary
- 1 Structures
- 2 Names and Identifiers
- 3 Chemical and Physical Properties
- 4 Spectral Information
- 5 Related Records
- 6 Chemical Vendors
- 7 Drug and Medication Information
- 8 Pharmacology and Biochemistry
- 9 Use and Manufacturing
- 10 Identification
- 11 Safety and Hazards
- 12 Toxicity

## Lampiran 4. Struktur Protein IGF2BP2

UniProt BLAST Align Peptide search ID mapping SPARQL UniProtKB Advanced | List Search

**Q9Y6M1 · IF2B2\_HUMAN**

<b>Function</b>	<b>Protein</b> <sup>i</sup>	Insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein 2	<b>Amino acids</b>	599 (go to sequence)
<b>Names &amp; Taxonomy</b>	<b>Gene</b> <sup>i</sup>	IGF2BP2	<b>Protein existence</b> <sup>i</sup>	Evidence at protein level
<b>Subcellular Location</b>	<b>Status</b> <sup>i</sup>	UniProtKB reviewed (Swiss-Prot)	<b>Annotation score</b> <sup>i</sup>	5/5
<b>Disease &amp; Variants</b>	<b>Organism</b> <sup>i</sup>	Homo sapiens (Human)		

Entry Variant viewer **386** Feature viewer Genomic coordinates Publications External links His

BLAST Align Download Add Add a publication Entry feedback

### Function<sup>i</sup>

RNA-binding factor that recruits target transcripts to cytoplasmic protein-RNA complexes (mRNPs). This transcript 'caging' into mRNPs allows mRNA transport and transient storage. It also modulates the rate and location at which target

RCSB PDB Deposit Search Visualize Analyze Download Learn About Documentation Careers COVID-19 MyPDB Contact us

RCSB PDB PROTEIN DATA BANK 213,818 Structures from the PDB 1,068,577 Computed Structure Models (CSM)

3D Structures Enter search term(s), Entry ID(s), or sequence Include CSM

Advanced Search | Browse Annotations Help

PDB-101 PDB EMDB BioRxiv NAKB PDB Foundation PDB-Dev

Structure Summary Structure Annotations Experiment Sequence Genome Versions

Biological Assembly 1

**6ROL**

Structure of IMP2 KH34 domains

PDB DOI: <https://doi.org/10.2210/pdb6ROL/pdb>

Classification: RNA BINDING PROTEIN

Organism(s): Homo sapiens

Expression System: Escherichia coli

Mutation(s): No

Deposited: 2019-05-13 Released: 2019-10-16

Deposition Author(s): Bhaskar, V., Biswas, J., Singer, R.H., Chao, J.A.

Funding Organization(s): Swiss National Science Foundation

Experimental Data Snapshot

Method: X-RAY DIFFRACTION

Resolution: 2.10 Å

R-Value Free: 0.224

R-Value Work: 0.198

wwPDB Validation 3D Report Full Report

Metric	Percentile Ranks	Value
Rfree		0.228
CisScore		9
Ramachandran outliers		0

Explore in 3D: Structure | Sequence Annotations | Electron Density | Validation Report | Ligand Interaction (PEG)

## Lampiran 5. Struktur Protein *MYCBP*

UniProt BLAST Align Peptide search ID mapping SPARQL UniProtKB Advanced | List Search Help

**Q99417 · MYCBP\_HUMAN**

**Function**

Names & Taxonomy  
Subcellular Location  
Disease & Variants  
PTM/Processing  
Expression  
Interaction  
Structure  
Family & Domains  
Sequence  
Similar Proteins

**Protein**<sup>i</sup> c-Myc-binding protein  
**Gene**<sup>i</sup> MYCBP  
**Status**<sup>i</sup> UniProtKB reviewed (Swiss-Prot)  
**Organism**<sup>i</sup> Homo sapiens (Human)

**Amino acids** 103 (go to sequence)  
**Protein existence**<sup>i</sup> Evidence at protein level  
**Annotation score**<sup>i</sup> 5/5

Entry Variant viewer **69** Feature viewer Genomic coordinates Publications External links History

BLAST Download Add Add a publication Entry feedback

**Function**<sup>i</sup>  
May control the transcriptional activity of MYC. Stimulates the activation of E box-dependent transcription by MYC.

**GO annotations**<sup>i</sup>  
Access the complete set of GO annotations on QuickGO [↗](#)

Help Feedback

RCSB PDB Deposit Search Visualize Analyze Download Learn About Documentation Careers COVID-19 MyPDB Contact Us

**RCSB PDB** PROTEIN DATA BANK 213,818 Structures from the PDB 1,068,577 Computed Structure Models (CSM)

3D Structures Enter search term(s), Entry ID(s), or sequence Include CSM Help

Advanced Search Browse Annotations

PDB-101 PDB EMDB/EMBL NAKB wwPDB PDB-Dev

Structure Summary Structure Annotations Experiment Sequence Genome Versions

Biological Assembly 1

**2YY0**  
Crystal Structure of MS0802, c-Myc-1 binding protein domain from Homo sapiens  
PDB DOI: <https://doi.org/10.2210/pdb2YY0/pdb>  
Classification: TRANSCRIPTION  
Organism(s): Homo sapiens  
Mutation(s): No

Deposited: 2007-04-27 Released: 2008-04-29  
Deposition Author(s): Xie, Y., Wang, H., Ihsanawati, Kishishita, S., Takemoto, C., Shirozu, M., RIKEN Structural Genomics/Proteomics Initiative (RSGI)

Experimental Data Snapshot  
Method: X-RAY DIFFRACTION  
Resolution: 2.40 Å  
R-Value Free: 0.289  
R-Value Work: 0.244  
R-Value Observed: 0.244

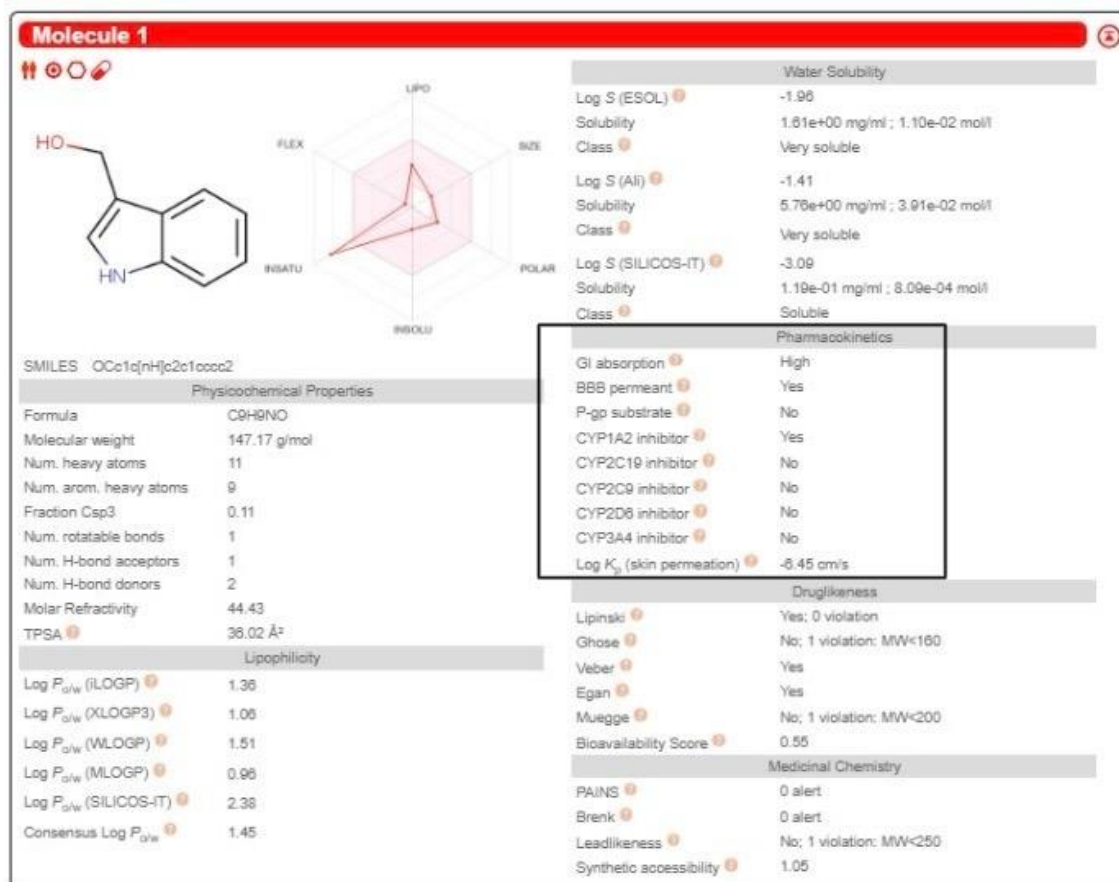
wwPDB Validation 3D Report Full Report

Metric	Percentile Ranks	Value
Rfree		0.284
CisScore		19
Ramachandran outliers		1.2%
Sidechain outliers		7.0%

Explore in 3D: Structure | Sequence Annotations | Electron Density | Validation Report

Global Symmetry: Asymmetric - C1

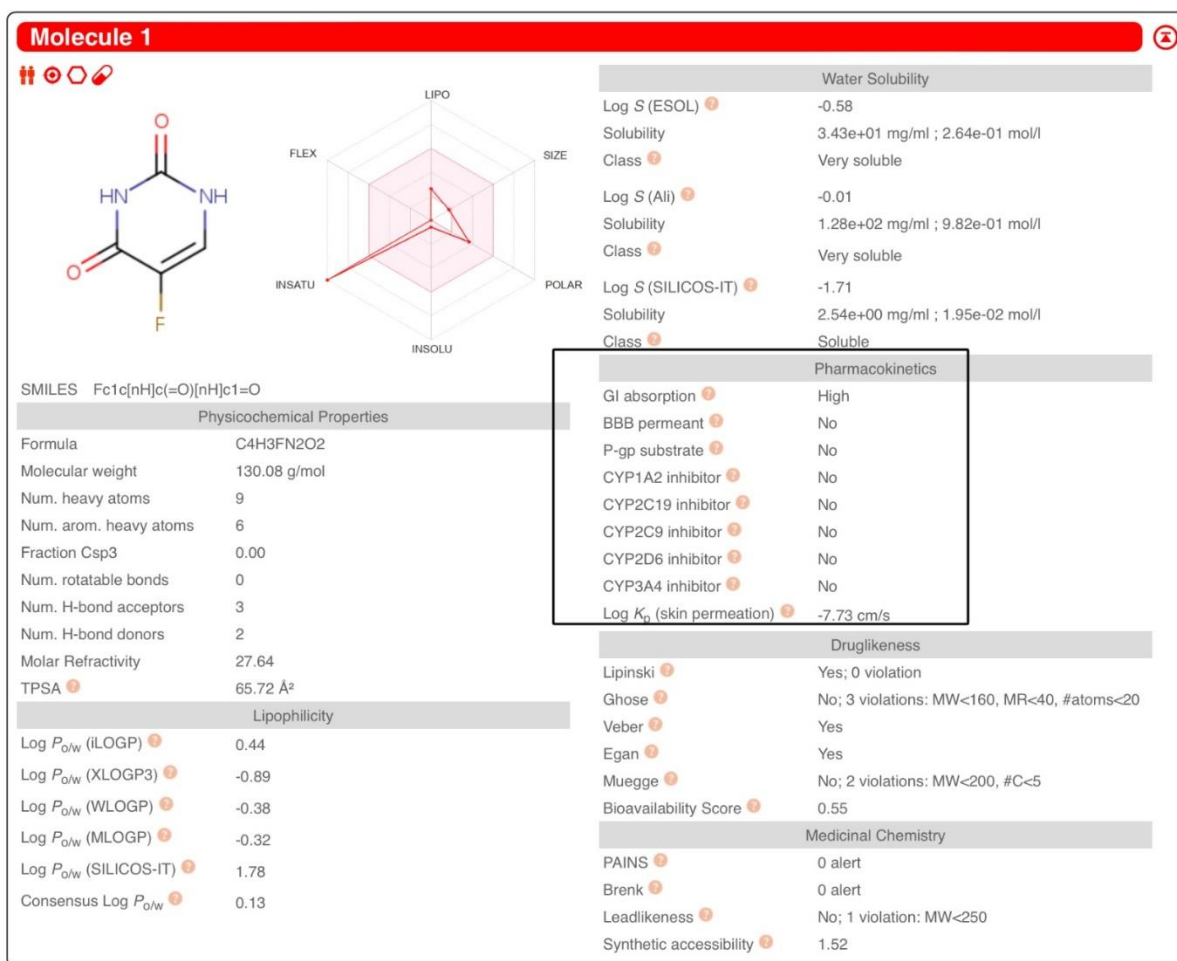
## Lampiran 6. Prediksi ADME senyawa *Indole-3-Carbinol*



Toxicity		
hERG Blockers	---	● 1
H-HT	--	● 1
DIU	-	● 1
AMES Toxicity	--	● 1
Rat Oral Acute Toxicity	++	● 1
FDAMDD	--	● 1
Skin Sensitization	+	● 1
Carcinogenicity	--	● 1
Eye Corrosion	---	● 1
Eye Irritation	+++	● 1
Respiratory Toxicity	+	● 1
Environmental Toxicity		
Bioconcentration Factors	0.461	● 1
IGC50	2.492	● 1
LC50FM	3.815	● 1
LC50DM	4.780	● 1

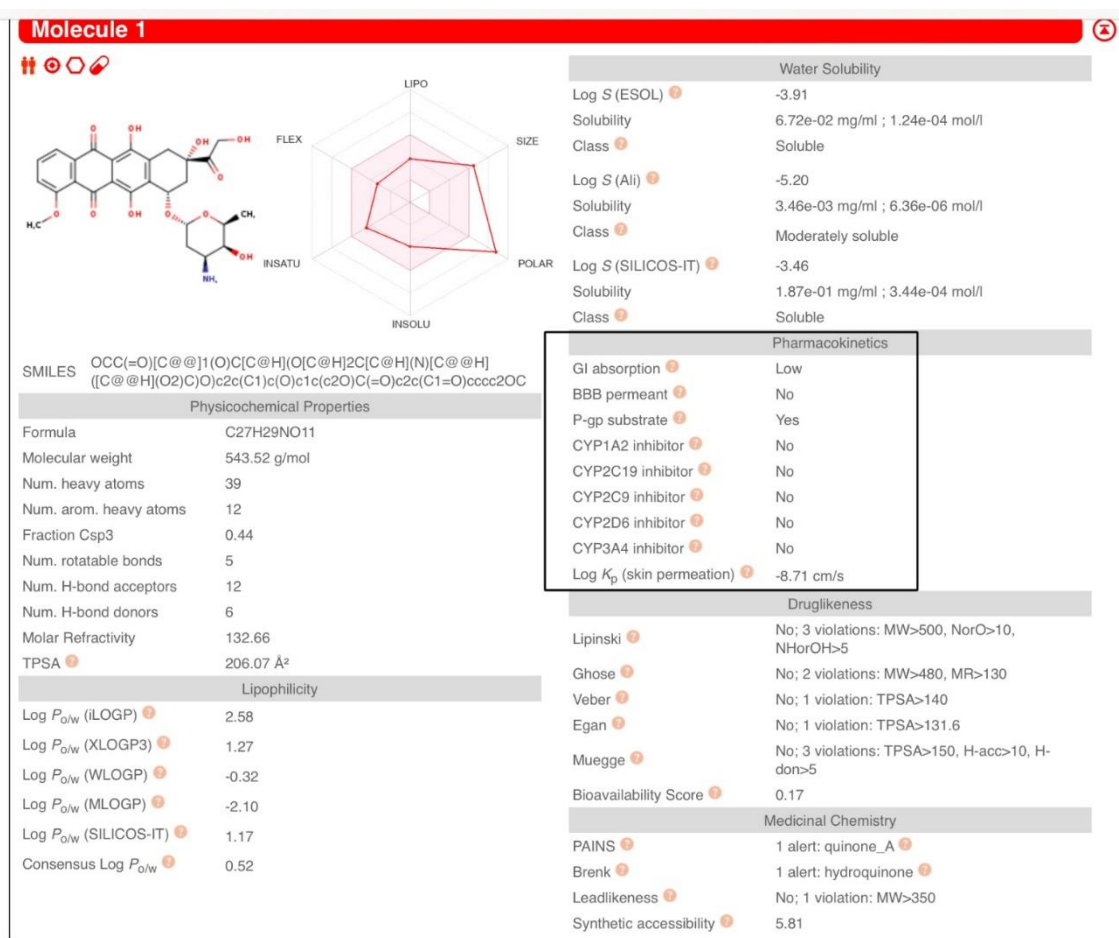


## Lampiran 7. Prediksi ADME senyawa 5-Fluorouracil



Toxicity			
hERG Blockers	---	●	i
H-HT	+	●	i
DILI	+++	●	i
AMES Toxicity	-	●	i
Rat Oral Acute Toxicity	--	●	i
FDAMDD	++	●	i
Skin Sensitization	+++	●	i
Carcinogenicity	+	●	i
Eye Corrosion	--	●	i
Eye Irritation	+	●	i
Respiratory Toxicity	+++	●	i
Environmental Toxicity			
Bioconcentration Factors	0.687		i
IGC <sub>50</sub>	4.642		i
LC <sub>50</sub> FM	4.570		i
LC <sub>50</sub> DM	5.211		i
Tox21 Pathway			

## Lampiran 8. Prediksi ADME Doxorubicin



Toxicity			
hERG Blockers	--	●	i
H-HT	-	●	i
DILI	+++	●	i
AMES Toxicity	+++	●	i
Rat Oral Acute Toxicity	--	●	i
FDAMDD	+++	●	i
Skin Sensitization	++	●	i
Carcinogenicity	+++	●	i
Eye Corrosion	---	●	i
Eye Irritation	---	●	i
Respiratory Toxicity	++	●	i
Environmental Toxicity			
Bioconcentration Factors	1.178		i
IGC <sub>50</sub>	5.382		i
LC <sub>50</sub> FM	4.976		i
LC <sub>50</sub> DM	6.859		i
Tox21 Pathway			

## POTENTIAL INDOLE-3-CARBINOL FROM KALE LEAVES (BRASSICA OLERACEA L) ON CERVICAL CANCER TARGETED IGF2BP2 AND MYCBP

Farhan AbduLLah Rizal<sup>1</sup>, Humairah Medina Liza Lubis<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Medical Education, Faculty of Medicine, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, Medan, Indonesia

<sup>2</sup>Dapartment of Anatomical Pathology, Faculty of Medicine, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, Medan, Indonesia

\*Corresponding Author. Email: [humairahmedina@umsu.ac.id](mailto:humairahmedina@umsu.ac.id)

### ABSTRCT

**Background:** Cervical cancer is a malignancy that occurs in the cervical part of the uterine organ. Until now, cervical cancer is still common and the number of cases continues to increase significantly in the world and Indonesia. Metabolic reprogramming due to oncogenic drugs plays an important role in cervical cancer tumorigenesis. The activity of glucose transporters and enzymes is a factor in the emergence of the Warburg effect which supports an increase in glucose and lactate levels in the tumor microenvironment, thereby encouraging cancer cell proliferation. One of the proteins that plays a role in this pathway is IGF2BP2 and MYCBP which can increase cancer development. This research uses a natural product, namely Kale Leaves (*Brassica oleracea* L) which contains the Indole-3-Carbinol compound which has anti-cancer effects by influencing various cellular signaling pathways. **Method:** This research uses an in silico test with molecular docking of the Indole-3 compound -Kale Leaf Carbinol targets IGF2BP2 and MYCBP proteins with positive controls for conventional cancer drugs, namely 5-Fluorouracil and Doxorubicin. **Results:**  $\Delta G$  (Gibbs Energy) values for Indole-3-Carbinol, doxorubicin, and 5-fluorouracil were -5.75, -4.45, and -6.90 kcal/mol. Meanwhile, the pKi values were 61.23, 549.10, and 8.72  $\mu\text{M}$  respectively. From the results above, using molecular simulations, we found that Indole-3-Carbinol has a greater binding affinity than 5-fluorouracil. **Conclusion:** Kale leaf Indole-3-Carbinol compound has good potential as a candidate for cervical anticancer drugs. with the targeted protein IGF2BP2.

**Keywords:** Cervical Cancer, In Silico,, Indole-3-Carbinol, Kale Leaves, Warburg Effect

## INTRODUCTION

Cervical cancer is a malignant tumor that occurs in the epithelial layer of the cervix. Cervical cancer ranks fourth among all malignant tumors worldwide. The number of new cases of cervical cancer is estimated to increase from 570,000 to 700,000 cases annually between 2018 and 2030, with annual deaths increasing from 311,000 to 400,000 cases.<sup>1</sup> In Indonesia, according to the Global Burden of Cancer Study 2020 data, cervical cancer cases rank as the second leading cause of cancer with a total of 36,633 cases. Based on this data, cervical cancer is the second most common cancer in Indonesia after breast cancer and the third leading cause of cancer-related deaths with 21,003 deaths.<sup>2</sup>

High-risk human papillomavirus (HPV), particularly genotypes HPV 16 and 18 which produce proteins E6 and E7, is the most common cause of cervical cancer. They infect poorly differentiated squamous basal keratinocytes and trigger tumorigenesis. HPV infection alters tumor cell metabolism, leading to immunosuppression and immunoprevention, thus promoting tumorigenesis (oncogenic mutations), as evidenced by increased expression of proteins E6 and E7, which promote inactivation of tumor suppressor proteins p53 and pRb, resulting in uncontrolled (eternal) cell division. These oncoproteins also prevent apoptosis, increase genomic instability, prevent telomere shortening, promote angiogenesis, and facilitate invasion and metastasis.<sup>3</sup> Metabolic phenotype changes are one of the post-infection microenvironmental signs. The microenvironment after HPV infection actively controls tumor cell metabolism activity, which is a key factor in HPV spread and cervical cancer development.<sup>4</sup>

In 1920, Otto Warburg discovered that cancer cells consume more glucose. Cancer cells can generate energy through oxygen-independent reactions (aerobic glycolysis), causing mitochondrial

dysfunction where glucose uptake will produce much more lactic acid. The increased lactic acid levels lead to biomass accumulation, which then continues as uncontrolled proliferation of cancer cells, a phenomenon known as the Warburg effect.<sup>5</sup>

Metabolic reprogramming due to oncogenic mutations plays a crucial role in tumorigenesis of various types of cancers, including cervical cancer. Glucose transporter activity and enzymes are factors contributing to the Warburg effect, supporting increased glucose and lactate levels in the tumor microenvironment, promoting cancer cell proliferation. The Warburg effect greatly enhances glycolysis metabolism, resulting in abundant oxygen and lactic acid release. Cancer cells heavily rely on aerobic glycolysis, allowing lactic acid formation from glucose to occur 10-100 times faster than complete glucose oxidation in mitochondria under normal conditions.<sup>6</sup> Cancer cells also regulate mitochondrial pathways in the two-tumor microenvironment, enhancing apoptosis resistance and cancer cell survival.<sup>7</sup>

One of the proteins involved in this signaling pathway is Insulin-like growth factor-2 mRNA binding proteins (IGF2BPs) and MYCBP, which can promote cancer development by stabilizing methylated mRNA and increasing tumor cell proliferation. This research will investigate the anti-cancer phytochemical effects along with natural products and cervical cancer pathogenesis through the IGF2BP2 and MYCBP pathways.

This study utilizes Kale leaves (*Brassica oleracea* L) rich in glucosinolates and related hydrolysis products including Indole-3-carbinol (I3C), which can act as Warburg effect inhibitors and regulate cellular energy to suppress cancer cell growth, thereby preventing cancer cell proliferation.<sup>8</sup> Epidemiological studies indicate that Kale leaves (*Brassica oleracea* L) can protect humans from cancers such as

colorectal, lung, breast, and prostate cancers.<sup>9</sup>

Indole-3-carbinol (I3C) is a natural product found in vegetables belonging to the Brassicaceae family. Many studies show that I3C suppresses the proliferation of various cancer cells, including breast, colon, prostate, and endometrial cancer cells. One example of its anti-proliferative properties comes from research conducted on non-tumorigenic and tumorigenic breast epithelial cells (MCF10A and MCF10CA1a respectively), which show that I3C induces apoptosis in breast cancer cells but not in non-tumorigenic breast epithelial cells. I3C and one of its reaction products, diindolylmethane (DIM), are involved in phase I detoxification enzyme induction, which can break down other food carcinogens. In situ and in vivo studies demonstrate the role of I3C as a chemoprotective agent in breast and prostate cancer.<sup>10</sup>

With numerous observed failures in cervical cancer treatment, there is considerable interest among researchers in studying cellular signaling pathways. Therapies involving specific inhibitors targeting one pathway cannot treat cancer in certain cases. However, some natural methods utilizing available compounds, including Indole-3-Carbinol, can inhibit human cancer by affecting various cellular signaling pathways and can therefore be defined as multi-target agents. Research conducted by Biersack in 2020 proved that Indole-3-Carbinol is a useful compound for overcoming drug resistance in cancer and metastatic tumors.<sup>11</sup>

The method used in this study involves in silico analysis. After identifying Kale leaf compounds (*Brassica oleracea* L), in silico analysis is conducted to investigate molecular docking with ligand proteins. The phytochemical effects of Kale leaves (*Brassica oleracea* L) as Warburg effect modulators have minimal side effects because their use is aimed directly at target

cancer cells compared to other therapy methods such as radiotherapy and chemotherapy. Thus, one of the research goals is to analyze the anti-cancer effects of Indole-3-Carbinol on cervical cancer by reducing glucose intake, focusing on the IGF2BP2 and MYCBP signaling pathways.

The method used in this study involves in silico analysis. After identifying Kale leaf compounds (*Brassica oleracea* L), in silico analysis is conducted to investigate molecular docking with ligand proteins. The phytochemical effects of Kale leaves (*Brassica oleracea* L) as Warburg effect modulators have minimal side effects because their use is aimed directly at target cancer cells compared to other therapy methods such as radiotherapy and chemotherapy. Thus, one of the research goals is to analyze the anti-cancer effects of Indole-3-Carbinol on cervical cancer by reducing glucose intake, focusing on the IGF2BP2 and MYCBP signaling pathways.

## METHODS

After identifying the compounds in kale leaves (*Brassica oleracea* L), in silico analysis was then carried out to determine molecular docking with protein ligands.<sup>12</sup> The natural compound *Indole-3-Carbinol* has been included in the PDB file. The Publication of Chemistry (PubChem) database provided the ligand protein's amino acid sequence. The 3D structure of the *Indole-3-carbinol* chemical component from *Brassica oleracea* L kale leaves was used for docking, and it was retrieved from the PubChem Open Chemistry Database. OpenBabel software will be used to convert the 3D structures of different chemicals stored in \*.sdf files into \*.pdb files. GDP is Q9Y6M1. Using the homology modeling approach, the target protein's 3D structure was predicted using the SWISS- MODEL web service. The Ramachandran plot was then used to confirm the 3D protein structure. Following that, the docking analysis findings will be displayed using

LigandScout 3.1, LigPlot+, and Discovery Studio 4.1 software.<sup>13,14</sup>

In our research, a laptop with 17 specifications was used. We obtained protein from PubChem for protein target screening. Using Autodock Tools 4.0, molecular docking and 2D visualization are accomplished. Molecular 3D visualization is accomplished with PyMOL. By using the search criteria "homo sapiens" and selecting the structure component in the UniProt database (<https://www.uniprot.org/>), IGF2BP2 and MYCBP was selected for the protein preparation. We discovered the correct PDB ID from the structure portion.<sup>15</sup>

By clicking the RSCB-PDB database (<https://www.rcsb.org/>), we were able to sort the protein after discovering the IGF2BP2 and MYCBP legitimate PDB ID from the structural section. resolution, year of publication, mutations, and native ligand are taken into consideration. Based on this knowledge, the candidate protein 6ROL and 2YY0, was selected to reflect the criteria that need to be taken into account (<https://www.rcsb.org/structure/6ROL>) and (<https://www.rcsb.org/structure/2YY0>). The X-Ray technique was used to experimentally identify the IGF2BP2 and MYCBP. The 6ROL's resolution 2.10 Å was first made available in RCSB-PDB in 2019. The 2YY0's resolution 2.40 Å was first made available in RCSB-PDB in 2008. In molecular simulations, the protein can be represented in its unaltered state without the need for mutation. The binding sites of these proteins can be identified via blind docking, and the amino acid residues involved in these binding sites can be predicted.<sup>16,17</sup> The structure of the bioactive compounds was ascertained by retrieving the data from the PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) database. After screening, the compounds were looked up in PubChem and downloaded in.sdf format.

For the purpose of predicting ADME and toxicity, ADMETlab 2.0

(<https://admetmesh.scbdd.com/>) was utilized. Bioactive chemical smiles were submitted to the web server, and toxicity and ADME data were gathered. Finding the best potential bioactive chemical was done using Lipinski's five rules and the level of toxicity.<sup>18</sup> Molecular docking preparation was carried out utilizing the AutodockTool program. Bioactive chemicals that were chosen based on ADMETOX predictions were prepared for molecular docking by using MarvinSketch software to convert the.sdf file to the.pdb format. Subsequently, the bioactive chemical and IGF2BP2 protein and MYCBP protein were prepared using AutodockTools software in order to create the.pdbqt file format.<sup>19</sup>

## RESULT

The docking results consist of three types: 3D visualization, 2D visualization, and Admetox. In silico testing is conducted between a protein and ligands. The protein used is IGF2BP2 and MYCBP found in cervical cancer cells, which is docked with ligands from compounds found in kale leaves, specifically *Indole-3-Carbinol*. The comparison ligands used are drugs commonly used in chemotherapy for cervical cancer, namely 5-Fluorouracil and Doxorubicin.

**Table 1.** Docking Results of IGF2BP2 protein

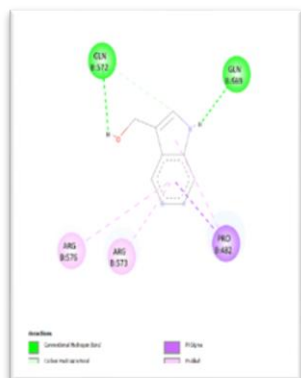
Bioactive Compound	Binding Energy	Inhibition Constant
Indole-3-Carbinol	-3.30	4.50
5-Fluorouracil	-3.08	5.55
Doxorubicin	-6.14	31.45

The  $\Delta G$  (Gibbs Energy) values for *Indole-3-Carbinol*, 5-fluorouracil and Doxorubicin are -3.20, -3.08 and -6.14 kcal/mol, respectively. Meanwhile, the pKi values are 4.50, 5.55, 31.45 respectively. From the above results, using molecular simulations, we found that *Indole-3-Carbinol* has a higher binding affinity compared to 5-fluorouracil.

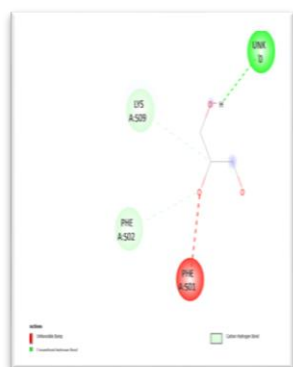
**Table 2.** Docking Results of MYCBP protein

Bioactive Compound	Binding Energy	Inhibition Constant
Indole-3-Carbinol	-5.75	61.23
5-Fluorouracil	-4.45	549.10
Doxorubicin	-6.90	8.72

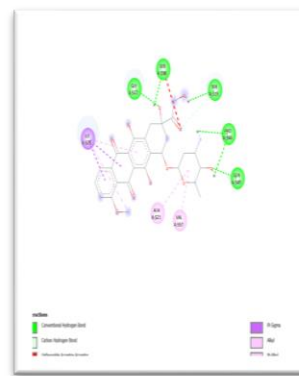
The  $\Delta G$  (Gibbs Energy) values for *Indole-3-Carbinol*, 5-fluorouracil and Doxorubicin are -5.75, -4.45 and -6.90 kcal/mol, respectively. Meanwhile, the pKi values are 61.23, 549.10, and 8.72 respectively. From the above results, using molecular simulations, we found that *Indole-3-Carbinol* has a higher binding affinity compared to 5-fluorouracil.



(A)



(B)



(C)

**Figure 1.** 2D Visualization of IGF2BP2 protein, (A) Indole-3-Carbinol, (B) 5-Fluorouracil, (C) Doxorubicin

2D visualization of Indole-3-Carbinol with the IGF2BP2 protein shows that there are 5 bonds. From the 5-Fluorouracil ligand with the IGF2BP2 protein, it was found that there were 4 bonds. From the Doxorubicin ligand with the IGF2BP2 protein, it was found that there were 8 bonds. showed that indole-3-carbinol had stronger binding compared to 5-fluorouracil.

**Table 3.** Amino Acid Residue Q9Y6M1

Protein	Bioactive Compound	G LN	G LN	PR O	AR G	AR G
Q9Y6M1	Indole-3-Carbinol	57	56	48	57	57
		2	9	2	3	6

Q9Y6M1 Indole-3-Carbinol ✓ ✓

Total 1 1

**Table 4.** Amino Acid Residue Q99417

Protein	Compound	LE U	LY S	LE U	TY R
Q99417	Indole-3-Carbinol	86	89	90	93

Q99417 Indole-3-Carbinol ✓

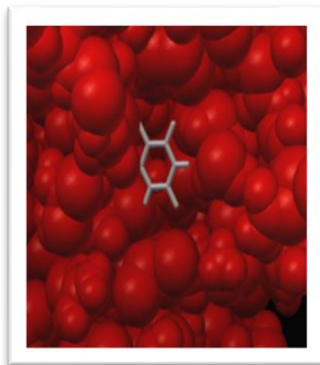
Total 1

The amino acid residue in the IGF2BP2 (Q9Y6M1) protein has 2 amino acids, while the MYCBP (Q99417) protein has 1 amino acid. This shows that the Indole-

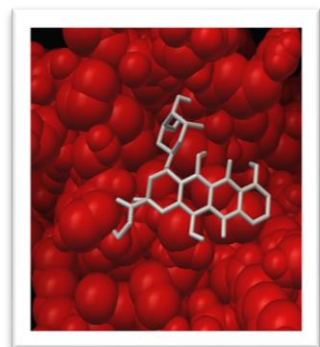
3-Carbinol ligand has better adhesion to the IGF2BP2(QY6M1) protein.



(A)

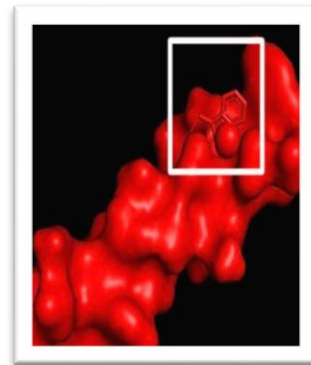


(B)

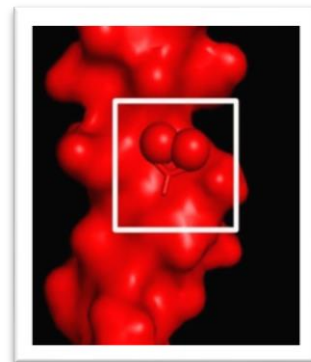


(C)

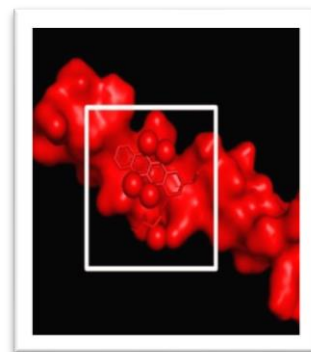
**Figure 2.** 3D Visualization of IGF2BP2 protein, (A) Indole-3-Carbinol, (B) 5-Fluorouracil, (C) Doxorubicin



(A)



(B)



(C)

Bonds between proteins and ligands are found in protein gaps. The bond that occurs is a strong bond because based on the nature of proteins, there are many active binding sites between protein gaps. Active binding sites that bind one protein to another form a strong bond.



**Table 5.** ADMETOX bioactive compounds by druglikeness

Compound	Molecular Weight	(H) Bond Acceptor	(H) Bond Donor	Log P
Indole-3-Carbinol	147.07	10	2	1.39
5-Fluorouracil	130.020	4	2	0.773
Doxorubicin	543.52	12	6	2.012

Based on Lipinski's 5 rules, it is stated that the molecular weight should not exceed 500 g/mol, Hydrogen Bond Donors should not be more than 5, Hydrogen Bond Acceptors should not be more than 10, and the Log P value should not exceed 5. Therefore, according to Lipinski's 5 rules, the compound *Indole-3-Carbinol* has satisfied all these criteria.

**Table 6.** ADMETOX bioactive compounds at Q9Y6M1 by Pharmacokinetics

Compound	GI	BBB	CYP1A2	CYP2C9	CYP2C19	CYP3A4	CYP3A5
Indole-3-Carbinol	High	✓	✓	X	X	X	X
5-Fluorouracil	High	X	X	X	X	X	X
Doxorubicin	Low	X	X	X	X	X	X

Based on the inhibitor study of the drug-metabolizing enzyme CYP, based on Lipinski's rule that no more than 2 CYP inhibitors should be inhibited. This shows that the indole-3-carbinol compound does not violate these regulations and is still within safe limits. This means that the

compound can be metabolized very well by the body. Additionally, it exhibits high absorption in the gastrointestinal tract and has the ability to penetrate the blood-brain barrier.

**Table 7.** ADMETOX bioactive compounds by Toxicities

Compound	AMES	OCAL	CARC	RESPI	LC50F	LC50D	Lipinski
Indole-3-Carbinol	--	+	--	+	3.815	4.78	✓
5-Fluorouracil	---	--	---	+	2.630	4.69	✓
Doxorubicin	++	--	+	+	4.976	6.859	X

Based on toxicity tests, it was found that *Indole-3-Carbinol* is not harmful if ingested, indicating its potential as a candidate for oral drug formulations. *Indole-3-Carbinol* also does not induce carcinogenicity. Therefore, according to Lipinski's 5 rules, the compound *Indole-3-Carbinol* is considered acceptable.

## DISCUSSION

Cervical cancer is cancer caused by Human Papilloma Virus (HPV) type 16 and type 18 which can interfere with glucose intake levels as a food ingredient (Warburg effect). This mechanism will influence the proliferation of cervical cancer cells, so further research is needed by focusing on target proteins on the Warburg effect. The target proteins that play an important role in this are IGF2BP2 (Insulin-like Growth Factor 2 mRNA Binding Protein 2) and MYCBP (MYCBP-Binding Protein).<sup>20,21</sup>

In silico a lot of information will be obtained which will be useful as a basis for conducting deeper research regarding its relationship to cancer, especially cervical cancer. In silico testing can provide information about the structures of the ligand

and target protein either in 2-dimensional visualization or 3-dimensional visualization so that binding results can be obtained between the ligand and protein. In silico tests also provide results regarding the druglikeness of the compounds used. Most importantly, in silico tests provide information on the absorption, distribution, metabolism and excretion of the compounds used. Also provide information regarding the druglikeness of a drug as well as toxicity or side effects that may arise.<sup>22,23</sup>

Two-dimensional visualization was carried out by docking the IGF2BP2 and MYCBP proteins with the Indole-3-Carbinol ligand with added comparators, namely 5-Fluorouracil and Doxorubicin. In the IGF2BP2 protein which was docked with Indole-3-carbinol compared with 5-Fluorouracil and doxorubicin, the results showed that Indole-3-Carbinol had potential compared to the standard drug, namely 5-Fluorouracil. on the MYCBP protein by comparing 5-Fluorouracil and Doxorubicin, the results showed that Indole-3-Carbinol was similar to the standard drug, namely 5-Fluorouracil. Between the IGF2BP2 protein and the MYCBP protein, the Indole-3-Carbinol compound binds better to the IGF2BP2 protein, and when compared with standard drugs, the Indole-3-Carbinol compound has the potential with a protein focus on IGF2BP2.<sup>24</sup>

3D visualization shows bonds between proteins and ligands in protein gaps. The bond that occurs is a strong bond because based on the nature of the protein, there are many active binding sites between the gaps in the protein. Active binding sites that bind one protein to another form a strong bond. Of the three compounds, the indole-3-carbinol compound binds in the middle of the IGF2BP2 protein gaps. When compared with the 5-Fluorouracil compound, it can be seen that there are still parts of the compound that do not bind to the protein, so the Indole-3-Carbinol compound has the potential to be a candidate for cervical cancer therapy. Thus, 3D visualization in in silico

assays plays an important role in understanding interactions between ligands and receptors, and can provide important insights in the development of pharmacological compounds.<sup>25</sup>

The parameters used in the druglikeness test are molecular weight, hydrogen bond acceptor, hydrogen bond donor, and logP. Based on Lipinski's 5 rules, the molecular weight of the compound should not be more than 500 Da, Hydrogen Bond Acceptor not more than 10, Hydrogen Bond Donor not more than 5 and logP not more than 5. The Indole-3-Carbinol compound meets all the criteria of Lipinski's 5 rules. When compared with the standard drug Doxorubicin, it was found that the molecular weight and hydrogen bond acceptor and hydrogen bond donor did not meet the 5 Lipinski rule criteria. The bond acceptor and bond donor will influence the absorption process of the compound. If the donor bond and acceptor bond are too large, it will require more energy, which can make it slower for the compound to reach the protein target. A compound will be more difficult to absorb in the body and have poor permeability if it violates Lipinski's 5 rules.<sup>26</sup> Lipinski explained that logP is a value related to the hydrophobicity or lipophilicity of a compound. If the logP value is too large it will cause higher toxicity. However, if the logP value is too small to the point of minus, it is also not good because the compound molecules cannot penetrate the membrane of the lipid bilayer so they will quickly bind with the water solvent.<sup>27</sup> Based on the drug likeness, the Indole-3-Carbinol compound has high potential as a candidate for cervical anticancer drugs.<sup>28</sup>

Prediction of ADME or absorption, Distribution Metabolism and Excretion is needed to see whether the compound used is safe for the body. The first is to carry out a pharmacokinetic test. In the pharmacokinetic test, several parameters are looked at, namely gastrointestinal absorption, blood brain barrier and CYP inhibition. Cytochrome or CYP based on Lipinski's rule

should not be more than 2 inhibited. In the Indole-3-Carbinol compound test, this compound can be absorbed well from the gastrointestinal tract, this shows that it can be a potential candidate for cervical cancer with oral preparations. Based on CYP inhibition, the Indole-3-Carbinol compound inhibits 1 out of 5 CYPs, however this is still within normal limits where according to Lipinski's rule no more than 2 CYPs should be inhibited. In the toxicity test, the Indole-3-Carbinol compound did not cause a carcinogen compared to Doxorubicin which tends to be a carcinogen. The conclusion based on Lipinski's rules is that the Indole-3-Carbinol compound is accepted while the standard drug, namely Doxorubicin, is rejected.<sup>29</sup>

Negative binding energy value indicates that during the bond formation process, no energy is needed from the environment, so the smaller or negative the binding energy value, the better the affinity of the ligand and protein or the more stable/stronger the bond is formed. The binding energy value is influenced by the formation of hydrogen bonds between the ligand and the receptor. The more hydrogen bonds, the stability of a complex will increase, so that the binding energy value is lower and the complex formed is more stable. The binding energy of the IGF2BP2 and MYCBP proteins shows that Indole-3-Carbinol has a binding energy value that is better than the 5-Fluorouracil compound but not better than Doxorubicin.

## CONCLUSION

Indole-3-Carbinol from kale leaves is an anticancer agent for cervical cancer, specifically targeting IGF2BP2 signaling and the Warburg effect, with the advantage of minimal side effects.

## SUGGESTION

Future research should add more ligands so that they don't just focus on one ligand. Add more target proteins so it's not just the Warburg effect. It is hoped that this research can be a stepping stone to continue with further research, specifically using in

vitro and in vivo tests so that the effectiveness of the Indole-3-Carbinol compound in Kale leaves can be further tested as a candidate for cervical cancer therapy.

## ACKNOWLEDGMENT

The authors present their thanks to Department of Anatomical Pathology and Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.

## REFERENCE

1. World Health Organization. Global strategy to accelerate the elimination of cervical cancer as a public health problem and its associated goals and targets for the period 2020 – 2030. Vol. 2, United Nations General Assembly. 2020. 1–56 p.
2. Sutnick AI, Gunawan S. Cancer in Indonesia. *JAMA J Am Med Assoc.* 2020;247(22):3087–8.
3. Shamseddine A, Burman B, Lee N, Zamarin D, Riaz N. Tumor Immunity and Immunotherapy for HPV-related cancers. *Cancer Discov.* 2021;11(8):1896–912.
4. Hu C, Liu T, Han C, Xuan Y, Jiang D, Sun Y, et al. HPV E6/E7 promotes aerobic glycolysis in cervical cancer by regulating IGF2BP2 to stabilize m6A-MYC expression. *Int J Biol Sci.* 2022;18(2):507–21.
5. Fan T, Sun G, Sun X, Zhao L, Zhong R. Tumor Energy Metabolism and Potential of 3-Bromopyruvate as an Inhibitor of Aerobic Glycolysis: Implications in Tumor Treatment. 2019;
6. Pascale RM, Calvisi DF, Simile MM, Feo CF, Feo F. The warburg effect 97 years after its discovery. *Cancers (Basel).* 2020;12(10):1–33.
7. Boese AC, Kang S. Mitochondrial metabolism-mediated redox regulation in cancer progression. *Redox Biol [Internet].* 2021;42:101870. Available from:

- <https://doi.org/10.1016/j.redox.2021.101870>
8. Qi Y, Zhang C, Wu D, Zhang Y, Zhao Y, Li W. Indole-3-Carbinol Stabilizes p53 to Induce miR-34a, Which Targets LDHA to Block Aerobic Glycolysis in Liver Cancer Cells. *Pharmaceuticals*. 2022;15(10).
  9. Popolo A, Pinto A, Daglia M, Nabavi SF, Farooqi AA, Rastrelli L. Two likely targets for the anti-cancer effect of indole derivatives from cruciferous vegetables: PI3K/Akt/mTOR signalling pathway and the aryl hydrocarbon receptor. *Semin Cancer Biol* [Internet]. 2017;46(May):132–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.semcancer.2017.06.002>
  10. Chamovitz DA, Katz E, Nisani S. Indole-3-carbinol: A plant hormone combatting cancer [version 1; referees: 2 approved]. *F1000Research*. 2018;7(0):1–9.
  11. Biersack B. 3,3'-Diindolylmethane and its derivatives: Nature-inspired strategies tackling drug resistant tumors by regulation of signal transduction, transcription factors and microRNAs. *Cancer Drug Resist*. 2020;3(4):867–78.
  12. Lin X, Li X, Lin X. A review on applications of computational methods in drug screening and design. *Molecules*. 2020;25(6):1–17.
  13. O'Boyle NM, Banck M, James CA, Morley C, Vandermeersch T, Hutchison GR. Open Babel: An open chemical toolbox - 1758-2946-3-33.pdf. *J Cheminform*. 2011;3(33):1–14.
  14. Allouche AR. Gabedita - A graphical user interface for computational chemistry softwares. Vol. 32, *Journal of Computational Chemistry*. 2011. p. 174–82.
  15. Garrett M. Morris. AutoDock Version 4.2 - User Guide. Guide. 2010;1–49.
  16. Pinzi L, Rastelli G. Molecular docking: Shifting paradigms in drug discovery. *Int J Mol Sci*. 2019;20(18).
  17. Maia EHB, Assis LC, de Oliveira TA, da Silva AM, Taranto AG. Structure-Based Virtual Screening: From Classical to Artificial Intelligence. *Front Chem*. 2020;8(April).
  18. Opo FADM, Rahman MM, Ahammad F, Ahmed I, Bhuiyan MA, Asiri AM. Structure based pharmacophore modeling, virtual screening, molecular docking and ADMET approaches for identification of natural anti-cancer agents targeting XIAP protein. *Sci Rep* [Internet]. 2021;11(1):1–18. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83626-x>
  19. Stitou M, Toufik H, Bouachrine M, Lamchouri F. Quantitative structure–activity relationships analysis, homology modeling, docking and molecular dynamics studies of triterpenoid saponins as Kirsten rat sarcoma inhibitors. *J Biomol Struct Dyn*. 2021;39(1):152–70.
  20. Zeng Q, Zhao RX, Chen J, Li Y, Li XD, Liu XL, et al. O-linked GlcNAcylation elevated by HPV E6 mediates viral oncogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016;113(33):9333–8.
  21. Ji F, Lu Y, Chen S, Yu Y, Lin X, Zhu Y, et al. IGF2BP2-modified circular RNA circARHGAP12 promotes cervical cancer progression by interacting m6A/FOXO1 manner. *Cell Death Discov* [Internet]. 2021;7(1):1–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41420-021-00595-w>
  22. Ekins S, Mestres J, Testa B. In silico pharmacology for drug discovery:

- Applications to targets and beyond. *Br J Pharmacol.* 2007;152(1):21–37.
23. Pope DJ, Fryer R, Masouros SD. In *Silico Models. Blast Inj Sci Eng A Guid Clin Res Second Ed.* 2023;(January):279–84.
  24. Casini A, Scozzafava A, Supuran CT. Cysteine-modifying agents: A possible approach for effective anticancer and antiviral drugs. *Environ Health Perspect.* 2002;110(SUPPL. 5):801–6.
  25. Liao J, Wang Q, Wu F, Huang Z. In *Silico Methods for Identification of Potential Active Sites of Therapeutic Targets.* Vol. 27, *Molecules.* 2022.
  26. Drwal MN, Banerjee P, Dunkel M, Wettig MR, Preissner R. ProTox: A web server for the in silico prediction of rodent oral toxicity. *Nucleic Acids Res.* 2014;42(W1):53–8.
  27. El-Din HMA, Loutfy SA, Fathy N, Elberry MH, Mayla AM, Kassem S, et al. Molecular docking based screening of compounds against VP40 from Ebola virus. *Bioinformatics.* 2016;12(3):192–6.
  28. Lipinski CA, Lombardo F, Dominy BW, Feeney PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev.* 2012;64(SUPPL.):4–17.
  29. Guttman Y, Kerem Z. Computer-Aided (In Silico) Modeling of Cytochrome P450-Mediated Food–Drug Interactions (FDI). *Int J Mol Sci.* 2022;23(15).