

IN SILICO TESTING OF *Andrographis Paniculata* COMPOUNDS AGAINST EGFR G719S MUTATIONS CAUSING RESISTANCE TO NON-SMALL CELL LUNG CANCER THERAPY

Erick Ferdian¹, Tiara Ajeng Listyani², Tatiana Siska Wardani³

E-mail: erickferdian557@gmail.com

ABSTRACT

*This study was motivated by the issue of therapeutic resistance in Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) due to EGFR G719S mutation and the need for alternative natural-based EGFR inhibitors to reduce the side effects of synthetic inhibitors. The objective of this study was to evaluate the potential of active compounds from *Andrographis paniculata* as EGFR inhibitors in NSCLC with G719S mutations in silico. The methods used included molecular docking using PyRx–AutoDock Vina, visualization of molecular interactions using PyMOL and BIOVIA Discovery Studio, ADME prediction using SwissADME, and toxicity analysis using ToxTree. Docking method validation was performed using an RMSD value reference of $< 2 \text{ \AA}$. Docking results showed that several compounds from *Andrographis paniculata* had significant affinity for the EGFR receptor EGFR. The compound (E)-4-hydroxy-4-(3-hydroxybut-1-en-1-yl)-3,5,5-trimethylcyclohex-2-en-1-one yielded the best results with an RMSD value of 1.855 \AA and a bond free energy of -5.4 kcal/mol , and forms amino acid residue interactions similar to the native ligand gefitinib. The ADME prediction of this compound meets the Lipinski's Rule of Five criteria, and toxicity testing shows a low toxicity level (Class I). Thus, the compound from *Andrographis paniculate* has the potential to be developed as a candidate EGFR inhibitor for NSCLC with the G719S mutation, although additional validation through in vitro and in vivo testing is still required.*

Keywords: *Andrographis paniculate*, EGFR G719S, Gefitinib, Non-Small Cell Lung Cancer.

UJI *IN SILICO* SENYAWA *Andrographis Paniculata* TERHADAP MUTASI EGFR G719S PENYEBAB RESISTENSI PADA TERAPI *NON-SMALL CELL LUNG CANCER*

Erick Ferdian¹, Tiara Ajeng Listyani², Tatiana Siska Wardani³

E-mail: erickferdian557@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini didorong oleh permasalahan resistensi terapi pada *Non-Small Cell Lung Cancer* (NSCLC) akibat mutasi EGFR G719S dan kebutuhan akan alternatif inhibitor EGFR berbasis bahan alam untuk mengurangi efek samping dari inhibitor sintetik. Tujuan penelitian adalah mengevaluasi potensi senyawa aktif dari *Andrographis paniculata* sebagai inhibitor EGFR pada NSCLC dengan mutasi G719S secara *in silico*. Metode yang digunakan meliputi *molecular docking* menggunakan PyRx–AutoDock Vina, visualisasi interaksi molekul dengan PyMOL dan BIOVIA Discovery Studio, prediksi ADME melalui SwissADME, serta analisis toksisitas menggunakan ToxTree. Validasi metode docking dilakukan dengan acuan nilai RMSD < 2 Å. Hasil *docking* menunjukkan bahwa beberapa senyawa dari *Andrographis paniculata* memiliki afinitas yang signifikan terhadap reseptor EGFR. Senyawa (E)-4-hydroxy-4-(3-hydroxybut-1-en-1-yl)-3,5,5-trimethylcyclohex-2-en-1-one memberikan hasil terbaik dengan nilai RMSD 1,855 Å dan energi bebas ikatan –5,4 kcal/mol, serta membentuk interaksi residu asam amino yang serupa dengan ligan natif gefitinib. Prediksi ADME senyawa ini memenuhi kriteria aturan Lipinski (*Rule of Five*), dan uji toksisitas menunjukkan tingkat rendah (Class I). Dengan demikian, senyawa dari *Andrographis paniculata* berpotensi dikembangkan sebagai kandidat inhibitor EGFR untuk NSCLC dengan mutasi G719S, meskipun validasi tambahan melalui uji *in vitro* dan *in vivo* tetap diperlukan.

Kata kunci: *Andrographis paniculate*, EGFR G719S, Gefitinib, *Non-Small Cell Lung Cancer*.

PENDAHULUAN

Penyakit kanker ditandai oleh pembelahan sel yang tidak terkendali serta kemampuan sel untuk menginvasi jaringan di sekitarnya (Balatif *et al.*, 2021). Pada laki-laki, kanker yang paling umum meliputi paru-paru, prostat, kolorektal, lambung, dan hati, sementara pada perempuan, jenis kanker yang paling sering ditemukan adalah payudara, kolorektal, paru-paru, serviks, dan tiroid (Rejeki, 2020). Menurut data World Health Organization tahun 2020, terdapat lebih dari 2,2 juta kasus baru kanker paru secara global, dengan estimasi kematian mencapai 1.796.144 kasus atau 11,4%. Di Indonesia, kanker paru menempati posisi ketiga dari segi insidensi, dengan tercatat 34.783 kasus baru (8,8%), sementara angka kematian akibat penyakit ini berada di peringkat pertama, mencapai 30.843 kasus atau 13,2% (Parwatininghati, 2023).

Pemilihan terapi untuk pada penyakit kanker paru bersifat individual, deteksi mutase *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR) memfasilitasi pemilihan obat target selektif seperti terapi target. Gefitinib, sebagai inhibitor tirosin kinase EGFR (EGFR-TKI), frekuensi efek samping bervariasi berdasarkan penelitian (Parwatininghati, 2023).

Sambiloto (*Andrographis paniculata*), yang termasuk *family Acanthaceae* dan dikenal sebagai "*King of Bitters*". Berdasarkan aktivitas farmakologisnya, tanaman ini efektif untuk mengatasi berbagai kondisi,

berperan sebagai imunomodulator, pengobatan iskemia miokardium, faringitis, dan infeksi saluran pernapasan. Selain itu, sambiloto menunjukkan sifat antimikroba, antiinflamasi, antihiperglikemia, antioksidan, antiaterosklerosis, anti-HIV, hepatoprotektor, dan antikanker (Shofa *et al.*, 2021)

Molecular docking merupakan teknik komputasi yang digunakan untuk memperkirakan interaksi antara molekul kecil (ligan) dan protein target, sekaligus menilai afinitas pengikatan serta menganalisis mekanisme interaksi molekuler yang terlibat. Pendekatan ini berperan penting dalam pengembangan obat berbasis struktur. (*structure-based drug design*) (Hadi *et al.*, 2025). Penelitian ini menggunakan pendekatan tersebut untuk memprediksi aktivitas senyawa bioaktif dari *Andrographis paniculata* terhadap protein target EGFR mutasi G719S, yang berperan dalam resistensi terapi pada *Non-Small Cell Lung Cancer* (NSCLC), melalui uji *in silico*.

METODOLOGI PENELITIAN

Pada penelitian ini bersifat kuantitatif, dengan melakukan pendekatan pre-experimental berbasis komputer yang akan dilakukan secara *in silico*. Dalam penelitian ini bertujuan untuk menganalisis suatu potensi senyawa yang terkandung dalam *Andrographis paniculata* sebagai inhibitor terhadap protein pada terapi *Non-Small*

Cell Lung Cancer (NSCLC) secara *in silico*.

ALAT DAN BAHAN

ALAT

Peralatan penelitian mencakup satu unit laptop dengan prosesor AMD Ryzen 3 3250U berintegrasi Radeon Graphics, RAM 4 GB, dan kapasitas penyimpanan 256 GB. Sedangkan perangkat lunak yang digunakan meliputi sistem operasi Windows 11, PubChem, Protein Data Bank (PDB), PyRx, AutoDock Vina, Vega ZZ, PyMOL, serta platform prediksi ADMET berbasis web seperti SwissADME dan Toxtree.

BAHAN

Struktur tiga dimensi (3D) protein EGFR G719S diunduh dari *Protein Data Bank* (RCSB PDB) dengan kode identitas 4WKQ, yang merupakan kompleks EGFR G719S dengan inhibitor Gefitinib. Desain struktur dua dimensi (2D) dan 3D dari 30 senyawa *Andrographis paniculata* dibuat menggunakan ChemDraw. Struktur gefitinib digunakan sebagai ligan natif sekaligus kontrol positif, sedangkan Paracetamol digunakan sebagai kontrol negatif.

PROSEDUR PENELITIAN

Pengunduhan Protein Target

Protein target EGFR mutasi G719S yang telah berikatan dengan Gefitinib diunduh dari Protein Data Bank (RCSB PDB) dengan kode identitas PDB ID: 4WKQ dan disimpan dalam format *.pdb*.

Pembuatan Struktur 3D Ligan Uji

Struktur dua dimensi (2D) dari 30 senyawa ligan uji dibuat menggunakan perangkat lunak ChemDraw, kemudian dikonversi menjadi model tiga dimensi (3D). Selanjutnya, struktur 3D disimpan dalam format berkas *.pdb*.

Preparasi Makromolekul

Struktur dilakukan proses pemisahan makromolekul dari ligan menggunakan BIOVIA *Discovery Studio Visualizer*. Berkas makromolekul dibuka untuk menampilkan struktur tiga dimensi (3D) protein EGFR, kemudian rantai molekul, ligan, dan residu yang tidak relevan dihapus melalui menu *Script* → *Selection* → *Select Water Molecules, Ligand, Protein Chains*, dilanjutkan dengan *Edit* → *Delete*. Struktur protein yang telah dipersiapkan kemudian disimpan dalam format *.pdb*.

Pengunduhan dan Preparasi Ligan Uji

Struktur tiga dimensi senyawa dibuka menggunakan Vega ZZ, kemudian ditambahkan atom hidrogen dan muatan parsial *Gasteiger*. Selanjutnya, diterapkan *force field* AutoDock dan dilakukan minimisasi energi sebanyak 3.000 langkah untuk memperoleh konformasi paling stabil. Senyawa yang telah dioptimasi disimpan sebagai ligan dalam format *.pdb* untuk uji *docking* dan *.mol* untuk uji toksisitas.

Validasi Metode Docking

Pada hasil *docking* dilakukan validasi dengan cara membandingkan pose ligan hasil docking terhadap ligan natif pada

situs aktif protein menggunakan PyMOL. Parameter yang digunakan pada validasi ini yaitu parameter *Root Mean Square Deviation* (RMSD) antara ligan natif dan ligan hasil *docking*, metode *docking* dianggap tervalidasi bila nilai RMSD berada di bawah ambang tertentu (umumnya $< 2 \text{ \AA}$),

Proses Molecular Docking

Proses *molecular docking* dilakukan menggunakan perangkat lunak PyRx yang mengintegrasikan sistem AutoDock Vina dengan pengaturan *grid box* sebagai penentu area pengikatan. Parameter dalam proses *docking* meliputi nilai *binding energy* yang dinyatakan dalam satuan kkal/mol serta nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) sebagai indikator kestabilan dan kesesuaian konformasi ikatan. Nilai *binding energy* yang semakin rendah terdapat afinitas ikatan yang semakin kuat antara ligan dan reseptor. Hasil dari *docking* disimpan dalam format *.pdb*.

Visualisasi Hasil

Hasil *docking molecular* yang telah disimpan dalam format *.PDB* kemudian divisualisasikan menggunakan *BIOVIA Discovery Studio Visualizer*. Visualisasi dilakukan secara 2D untuk mengetahui ikatan yang terjadi.

Prediksi Parameter ADME

Prediksi nilai ADME pada penelitian ini menggunakan program *Swiss ADME* yang dijalankan secara online (<https://www.swissadme.ch/>).

Parameter yang dievaluasi dalam uji ADME mencakup sifat fisikokimia (rumus

molekul, berat molekul, jumlah akseptor dan donor ikatan hidrogen), tingkat lipofilisitas, serta kelarutan dalam air. Selain itu, aspek farmakokinetik yang dianalisis meliputi absorpsi gastrointestinal (GI), kemampuan menembus *Blood-Brain Barrier* (BBB), serta potensi inhibisi terhadap enzim CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, dan CYP3A4. Penilaian juga mencakup parameter *druglikeness*, termasuk skor bioavailabilitas.

Prediksi Parameter Toksisitas

Uji toksisitas dalam penelitian ini dilakukan secara *in silico* menggunakan perangkat lunak Toxtree untuk memprediksi tingkat toksisitas senyawa yang diteliti. Hasil perhitungan tersebut selanjutnya digunakan sebagai dasar dalam mengevaluasi potensi keamanan senyawa secara teoritis ditampilkan pada *Classification Area* dan *Method - View decision tree* untuk melihat rincian *decision tree*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Docking Molecular

Berdasarkan hasil *molecular docking* terhadap protein EGFR, 30 ligan uji dan dua ligan pembanding menunjukkan nilai RMSD serta $\Delta G_{\text{binding}}$ terbaik (terendah). Energi ikatan berada pada rentang $-7,7$ hingga $-4,0$ kkal/mol, sedangkan nilai RMSD berkisar antara $1,039$ hingga $2,359 \text{ \AA}$. Hasil nilai RMSD dan $\Delta G_{\text{Binding}}$ sesuai dengan literatur Listyani *et al.*, (2019) yang menyatakan bahwa nilai RMSD $< 3 \text{ \AA}$ masih dapat

diterima untuk menunjukkan kesejajaran konformasi struktur, dengan nilai optimal $< 2 \text{ \AA}$. Selain itu, semakin kecil nilai $\Delta G_{\text{binding}}$, semakin kuat dan stabil interaksi ligan dibandingkan senyawa pembanding. Hasil *molecular docking* dari 30 ligan uji terhadap nilai $\Delta G_{\text{Binding}}$ jika dibandingkan dengan gefitinib digunakan sebagai ligan natif sekaligus kontrol positif, sedangkan parasetamol digunakan sebagai kontrol negatif terdapat yang lebih tinggi dari kontrol pembanding dan kontrol positif, yaitu paracetamol sebagai kontrol negatif memiliki $\Delta G_{\text{binding}} -4.9$ dan nilai RMSD 1.655, sedangkan gefitinib sebagai ligan natif memiliki $\Delta G_{\text{binding}} -7.7$ dan nilai RMSD 1.616,. Namun, dari 30 ligan uji, terdapat senyawa terbaik yaitu (E)-4-hydroxy-4-(3-hydroxybut-1-en-1-yl)-3,5,5-trimethylcyclohex-2-en-1-one dengan nilai $\Delta G_{\text{Binding}}$ yaitu -5.4 masih dikatakan stabil, namun tidak cukup stabil jika dibandingkan dengan kontrol pembanding dan kontrol positif. Hasil *docking* disimpan dalam format *.pdb* dan selanjutnya dianalisis untuk mengidentifikasi interaksi residu asam amino menggunakan BIOVIA Discovery Studio Visualizer.

Interaksi Ligan Uji Dengan Reseptor

Pada hasil interaksi dari ke 30 senyawa sambiloto terdapat 6 senyawa yang memiliki interaksi residu asam amino *conventional hydrogen*. yang sama dengan kontrol positif dalam ikatan yaitu CSX A797, LYS A745. Dari senyawa tersebut dapat ditemukan adanya residu

asam amino yang berinteraksi dari segi ikatan hidrogen, Interaksi dengan residu CSX A: 797 dan LYS A: 745 merupakan karakteristik umum inhibitor EGFR, karena residu ini terletak pada ATP-binding pocket yang berperan penting dalam stabilisasi kompleks. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa pembentukan ikatan hidrogen dengan CSX A: 797 dan LYS A: 745 berkorelasi dengan peningkatan aktivitas penghambatan tirosin kinase hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Li *et al.*, 2020).

Berdasarkan pola interaksi residu asam amino, sejumlah senyawa uji menunjukkan kesesuaian pola ikatan dengan sisi aktif protein target *conventional hydrogen bond* dengan gefitinib sebagai ligan natif dan kontrol positif. Gefitinib pada EGFR berperan sebagai residu kunci yang dapat membentuk ikatan hidrogen dengan ligan (senyawa uji atau obat). Interaksi ini membantu menstabilkan kompleks ligan EGFR sehingga meningkatkan afinitas pengikatan dan potensi aktivitas antiinflamasi senyawa tersebut dimana residu tersebut memegang peranan vital dalam menstabilkan inhibitor di dalam kantong pengikatan *ATP*.

Hasil Parameter ADME

Berdasarkan hasil penelitian ini dikategori *molecular weight* semua senyawa sambiloto tidak terdapat ligan uji yang berat molekulnya lebih besar dari 500 g/mol. Semua memiliki berat molekul di bawah 500 Da, sehingga

senyawa tersebut memenuhi persyaratan kriteria berat molekul pada hukum *Lipinski* dan diprediksi memiliki permeabilitas membran yang lebih rendah. Hal ini sejalan dengan penelitian Nurfaidah, (2023) pernyataan tersebut menjelaskan bahwa molekul dengan berat molekul lebih dari 500 Da umumnya tidak mampu berdifusi menembus membran sel melalui mekanisme difusi pasif

Pada kategori lipofilisitas (LogP), hasil menunjukkan bahwa ada satu senyawa uji memiliki nilai log P yang melebihi rentang -0,4 – 5 yaitu senyawa *Bis(6-methylheptyl) phthalate* dengan nilai log P 6,50 tidak memenuhi syarat parameter *Lipinski Rules*. Menurut penelitian yang dilakukan oleh, Odhiambo *et al.*, (2025) melaporkan bahwa jika senyawa dengan log P di atas batas ini berpotensi memiliki sifat ADME yang kurang ideal. Nilai logP yang semakin tinggi menunjukkan bahwa suatu molekul bersifat semakin hidrofobik. Selain itu, banyaknya donor dan akseptor ikatan hidrogen menunjukkan kemampuan molekul dalam membentuk ikatan hidrogen; semakin besar jumlahnya, semakin besar pula energi yang dibutuhkan agar proses absorpsi dapat terjadi secara optimal (Nurfaidah, 2023). Pada parameter *hydrogen bond donor* (HBD) dan *hydrogen bond acceptor* (HBA), hasil analisis terhadap 30 senyawa menunjukkan bahwa mayoritas senyawa masih berada dalam batas maksimum yang ditetapkan oleh aturan

Lipinski yaitu ≤ 5 donor dan ≤ 10 akseptor ikatan hidrogen. Jumlah donor dan akseptor yang sesuai mendukung keseimbangan antara kelarutan dan permeabilitas membran. Hal dapat menghambat difusi pasif melalui membran lipid.

Dengan demikian, temuan dalam penelitian ini konsisten dengan hasil yang dilaporkan oleh Kumar *et al.*, 2022 yang melaporkan bahwa peningkatan jumlah HBD dan HBA dapat menurunkan permeabilitas oral senyawa.

Hasil prediksi parameter ADME pada tabel menunjukkan bahwa Sebagian besar senyawa yang terkandung dalam sampiloto memiliki kemampuan absorpsi yang baik disaluran pencernaan. Namun demikian, terdapat 7 senyawa yang memiliki kemampuan absorpsi gastrointestinal yang rendah, (*1R,4S,5S*)-1,8-dimethyl-4-(*prop-1-en-2-yl*) spiro [4.5] dec-7-ene, 1,2-dichloro-4-(trifluoromethyl) benzene, (Chloromethyl) benzene, Butane 2,3 diylidicyclohexane, (4methylpentyl) cyclohexane, 1,5-diethyl-2,3dimethylcyclohexane, dan Pent-4-en-1-ylcyclohexane. Dari 7 senyawa tersebut, sebagian besar termasuk dalam golongan diterpenoid. Diterpenoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang tersusun atas empat unit isoprena dengan total 20 atom karbon (C₂₀), yang umumnya dibiosintesis melalui prekursor geranylgeranyl pirofosfat (GGPP). Golongan ini banyak ditemukan pada tanaman obat, termasuk

Andrographis paniculata, dan diketahui memiliki berbagai aktivitas biologis penting, seperti antikanker dan antiinflamasi. Dengan demikian, temuan dalam penelitian ini konsisten dengan hasil yang dilaporkan oleh Almeida *et al.*, (2025) yang menyatakan bahwa diterpenoid memiliki aktivitas biologis kuat (antikanker, imunomodulator), namun keterbatasannya adalah profil farmakokinetik yang kurang optimal, termasuk bioavailabilitas oral.

Salah satu parameter yang dapat dievaluasi secara *in silico* dengan tingkat akurasi tertentu adalah kemampuan penetrasi *Blood-Brain Barrier* (BBB). Penetrasi yang tinggi umumnya diperlukan bagi obat yang ditujukan untuk mencapai sistem saraf pusat (SSP). Untuk dapat memasuki jaringan otak, molekul senyawa harus melewati sawar darah otak melalui mekanisme difusi pasif transseluler dan/atau transport aktif. Sebaliknya, pada obat yang tidak ditujukan untuk SSP, penetrasi BBB perlu diminimalkan guna mengurangi risiko efek farmakologis yang tidak diinginkan serta potensi neurotoksisitas (Huang *et al.*, 2024). Berdasarkan hasil analisis terhadap 30 senyawa uji dari *Andrographis paniculata*, diperoleh delapan senyawa yang diprediksi tidak mampu menembus BBB dan dua puluh dua senyawa yang diprediksi mampu menembus BBB. Hasil tersebut diduga berkaitan dengan karakteristik fisikokimia senyawa, yaitu ukuran molekul yang relatif kecil, sifat

yang lebih lipofilik, serta tingkat kepolaran yang lebih rendah, sehingga masih berada dalam rentang yang mendukung penetrasi BBB dan memungkinkan senyawa mencapai jaringan otak. Hasil tersebut konsisten dengan penelitian terdahulu yang melaporkan kesesuaian terhadap mekanisme dan pola interaksi yang telah dipublikasikan.

Selain itu, sifat fisikokimia diketahui memiliki peran krusial dalam memengaruhi kemampuan senyawa untuk menembus *Blood-Brain Barrier* (BBB) (Cornelissen *et al.*, 2023).

P-glikoprotein (PGP) memiliki fungsi sebagai penghalang biologis dengan mengeluarkan racun dalam sel. Parameter ini memprediksi apakah suatu senyawa uji kemungkinan besar merupakan substrat/inhibitor P-glikoprotein (Tia & Luo, 2025).

Dari 30 senyawa sambiloto tidak terdapat yang bisa terserap ke otak (*Yes*), secara farmakokinetik, kondisi ini menguntungkan karena senyawa berpotensi dipompa keluar dari sel usus sehingga tidak menurunkan konsentrasi sistemik. Hal ini sejalan dengan penelitian dilakukan Wang *et al.*, (2024) yang menyatakan bahwa dalam konteks *docking molecular*, status P-gp *substrate* tidak memengaruhi langsung afinitas ligan-reseptor, melainkan lebih berpengaruh pada ketersediaan obat secara *in vivo*.

Enzim CYP1A2, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6, dan CYP3A4 merupakan

isoenzim utama sitokrom P450 di hepar yang secara kolektif bertanggung jawab terhadap metabolisme oksidatif sebagian besar obat yang digunakan secara klinis, sehingga perubahan aktivitasnya akan sangat memengaruhi klirens, waktu paruh, dan efektivitas senyawa aktif. CYP1A2 banyak mengkatalisis metabolisme obat-obat seperti kafein dan klozapin, sementara CYP2C9 dan CYP2C19 berperan penting dalam biotransformasi berbagai antiepileptik, antikoagulan, dan obat kardiovaskular. CYP2D6 bertanggung jawab terhadap metabolisme sekitar 20–25% obat, termasuk konversi kodein menjadi morfin, sedangkan CYP3A4 adalah isoenzim paling dominan yang bersama CYP lain dengan demikian, temuan dalam penelitian ini konsisten dengan hasil yang dilaporkan mengenai sebagian besar biotransformasi obat di hati, sehingga senyawa yang mampu menginduksi atau menghambat enzim-enzim ini berpotensi mengubah profil farmakokinetik obat lain dan menimbulkan interaksi obat yang bermakna secara klinis (Thorén *et al.*, 2021).

Dalam penelitian ini, sebagian besar senyawa uji menunjukkan hasil “No” pada parameter CYP1A2 inhibitor, kecuali empat senyawa yaitu *Diisobutyl phthalate*, *2-cyclohexylethyl isobutyl phthalate*, *Dibutyl phthalate*, (*4-methylpentyl*) *cyclohexan*. Hasil “No” pada sebagian besar senyawa menunjukkan risiko interaksi

farmakokinetik yang relatif rendah dengan obat lain yang dimetabolisme oleh CYP1A2. Dengan demikian, temuan dalam penelitian ini konsisten dengan hasil yang dilaporkan oleh Falconi *et al.*, (2022) menyatakan bahwa senyawa yang tidak menghambat CYP1A2 umumnya berpotensi memiliki profil farmakokinetik yang lebih stabil, sehingga dapat meminimalkan perubahan kadar obat lain secara sistemik.

Dari 30 senyawa sambilan terdapat 7 senyawa yang menunjukkan “Yes” yaitu (1R,4S,5S)-1,8-dimethyl-4-(prop-1-en-2-yl) spiro [4.5] dec-7-ene, *Diisobutyl phthalate*, *2-cyclohexylethyl isobutyl phthalate*, *Dibutyl phthalate*, 4,8A-dimethyl -6- (prop-1-en-2-yl) -3,5,6,7,8,8 a-hexahydronaphthalen-2(1H)-one, 1,5-diethyl-2,3-dimethylcyclohexane, dan *Ethyl (5-methylhexan-2-yl) phthalate*. Serta senyawa yang menunjukkan “No” pada CYP2C19 inhibitor, mengindikasikan bahwa senyawa uji tidak berpotensi menimbulkan interaksi farmakokinetik melalui jalur ini. Senyawa yang tidak menghambat CYP2C19 cenderung memiliki profil metabolik yang konsisten dan aman, terutama ketika digunakan bersama obat lain dengan demikian, temuan dalam penelitian ini konsisten dengan hasil yang dilaporkan oleh (Arimori *et al.*, 2023).

Pada aspek inhibisi CYP2C9, enzim CYP2C9 memiliki karakteristik sebagai asam lemah yang cenderung berinteraksi

dengan akseptor ikatan hidrogen, seperti yang ditemukan pada beberapa senyawa golongan *nonsteroidal anti-inflammatory drugs* (NSAID). Enzim ini merupakan bagian dari sistem sitokrom P450 yang terlokalisasi di hati manusia dan berperan dalam proses oksidasi berbagai senyawa endogen maupun xenobiotik. Berdasarkan hasil analisis terhadap 30 senyawa uji dari *Andrographis paniculata*, sebanyak delapan senyawa menunjukkan hasil "Yes", yang mengindikasikan potensi sebagai substrat CYP2C9 yaitu (1R,4S,5S)-1,8-dimethyl-4-(prop-1-en-2-yl)spiro[4.5]dec-7-ene, Diisobutyl phthalate, 2-cyclohexylethyl isobutyl phthalate, Dibutyl phthalate, 4,8a-dimethyl-6-(prop-1-en-2-yl)-3,5,6,7,8,8a-hexahydronaphthalen-2(1H)-one, Butane-2,3-diylidicyclohexane, 1,5-diethyl-2,3-dimethylcyclohexane, Ethyl (5-methylhexan-2-yl) phthalate, Dengan demikian, temuan dalam penelitian ini konsisten dengan hasil yang dilaporkan oleh Pratama *et al.*, (2023) yang melaporkan bahwa Senyawa yang tidak membentuk substrat umumnya memiliki kecenderungan untuk terionisasi, sehingga tidak termasuk dalam kategori substrat enzim CYP2C9. Hasil prediksi ADME ini menunjukkan bahwa Sebagian besar senyawa tidak menghambat ezim CYP2D6 yang mengindikasikan *profil interaksi metabolik yang rendah*, kecuali 1 senyawa yaitu 2-cyclohexylethyl isobutyl

phthalate. Dengan demikian, temuan dalam penelitian ini konsisten dengan hasil yang dilaporkan oleh Wang *et al.* (2022) yang menyatakan bahwa senyawa yang tidak menghambat CYP2D6 umumnya memiliki *profil metabolisme yang lebih stabil*, sehingga lebih menguntungkan dalam pengembangan kandidat obat baru. Sebaliknya, senyawa yang menunjukkan potensi inhibisi CYP2D6 perlu mendapat perhatian khusus karena, penelitian yang dilakukan oleh Lee *et al.*, (2025), inhibisi aktivitas CYP2D6 dapat menyebabkan peningkatan *area under the curve* (AUC) dan konsentrasi plasma obat substratnya, yang berpotensi memengaruhi respons terapeutik serta meningkatkan risiko efek samping. Dari hasil melalui prediksi ADME bahwa sebagian besar senyawa menunjukkan dalam tabel tidak menghambat enzim CYP3A4, yang mengindikasikan *risiko interaksi metabolik yang relatif rendah*. Dengan demikian, temuan dalam penelitian ini konsisten dengan hasil yang dilaporkan oleh Liu *et al.*, (2023) bahwa ligan atau obat yang tidak menghambat CYP3A4 cenderung memiliki *profil keamanan klinis yang lebih baik*, karena tidak mengganggu metabolisme obat lain yang dimediasi oleh enzim tersebut. Namun terdapat 1 senyawa ini yang menunjukkan potensi sebagai inhibitor CYP3A4 yaitu senyawa 2-cyclohexylethyl isobutyl phthalate. Sehingga senyawa-senyawa ini perlu mendapat perhatian lebih lanjut terkait

kemungkinan terjadinya *drug-drug interactions* (Marques *et al.*, 2024).

Parameter bioavailabilitas digunakan untuk menilai kemampuan suatu senyawa kandidat obat dalam diserap oleh tubuh. Oleh karena itu, evaluasi terhadap bioavailabilitas menjadi langkah penting dalam proses penapisan awal pengembangan obat (Fauzi *et al.*, 2024). Dimana skor yang lebih tinggi (≥ 0.55) umumnya diartikan sebagai indikasi bahwa senyawa memiliki peluang yang lebih baik untuk diserap secara oral dan mencapai sirkulasi sistemik dalam konsentrasi yang cukup, sehingga sering digunakan sebagai kriteria seleksi awal kandidat obat dalam studi *in silico* (Klimoszek *et al.*, 2024). Dari hasil uji yang telah dilakukan ke 30 senyawa tersebut memiliki nilai bioavailabilitas yang baik dengan nilai 0,55. Dengan demikian, temuan dalam penelitian ini konsisten dengan hasil yang dilaporkan oleh (Bosnić *et al.*, 2021) menyatakan bahwa *nilai bioavailability $\geq 0,55$, menunjukkan bahwa senyawa-senyawa tersebut berpotensi memiliki profil absorpsi oral yang baik menurut model prediktif in silico.*

Hasil Parameter Toksisitas

Berdasarkan uji toksisitas yang telah dilakukan menggunakan aplikasi *Toxtree* terhadap 30 senyawa sambiloto dengan analisis menggunakan parameter *Cramer Rules*, diketahui bahwa terdapat 10 senyawa tersebut termasuk dalam *High (Class III)*. Temuan tersebut

menunjukkan bahwa senyawa-senyawa tersebut berpotensi memiliki toksisitas tinggi karena mengandung gugus reaktif, seperti struktur heterosiklik serta lakton atau diester siklik. Karakteristik ini dapat meningkatkan reaktivitas biologis senyawa, dengan demikian temuan dalam penelitian ini konsisten dengan hasil yang dilaporkan oleh (Resvita *et al.*, 2020)

Hasil tersebut menunjukkan bahwa beberapa senyawa memiliki struktur kimia yang berpotensi tidak aman atau menimbulkan toksisitas signifikan (Listyani *et al.*, 2025). Dari 30 senyawa yang dianalisis, 17 termasuk kategori *Low (Class I)*, yang menunjukkan toksisitas rendah karena struktur kimianya relatif sederhana, sejalan dengan literatur sebelumnya (Listyani *et al.*, 2019). Selain itu, tiga senyawa tergolong *Intermediate (Class II)*, sehingga masih dapat dipertimbangkan, namun memerlukan kehati-hatian dalam penentuan dosis, durasi penggunaan, serta verifikasi toksisitas lanjutan untuk memastikan keamanannya (Abbood *et al.*, 2025).

Hasil "*negative for genotoxic carcinogenicity*" menunjukkan bahwa sebanyak 25 senyawa uji dari 30 senyawa uji secara prediktif tidak memicu kerusakan DNA atau perubahan materi genetik yang dapat mengawali proses karsinogenesis. Sementara itu, status "*negative for nongenotoxic carcinogenicity*" mengindikasikan bahwa senyawa tidak diperkirakan

menimbulkan kanker melalui mekanisme lain seperti stres oksidatif kronis, gangguan hormonal, atau proliferasi sel berkepanjangan tanpa keterlibatan langsung kerusakan DNA (Abbood *et al.*, 2025). Sehingga secara keseluruhan profil ini mendukung bahwa kandidat senyawa memiliki risiko karsinogenik yang rendah berdasarkan prediksi toksikologi yang digunakan.

Parameter toksisitas *in vitro* *mutagenicity* (*ames test*) menggambarkan kemampuan suatu senyawa untuk terjadinya mutasi pada DNA bakteri, umumnya menggunakan strain *Salmonella typhimurium* sebagai sistem uji. Seluruh senyawa uji yang menunjukkan hasil "no alert for *S. typhimurium mutagenicity*" mengindikasikan bahwa berdasarkan model prediksi, tidak terdapat sinyal struktural atau aktivitas yang mengarah pada potensi menyebabkan mutasi pada bakteri tersebut (Abbood *et al.*, 2025).. Sehingga risiko mutagenisitas *in vitro* diperkirakan rendah untuk senyawa uji sambilanoto.

KESIMPULAN

Terdapat interaksi antara senyawa sambilanoto dengan residu asam amino reseptor EGFR. Senyawa yang memiliki pola interaksi yang sama dengan ligan natif dan kontrol positif (Gefitinib) adalah *Bis(6-methylheptyl) phthalate*, *1,3,5-trimethylpyrimidine-2,4(1H,3H)-dione*, *(E)-4-hydroxy-3,5,6-trimethyl-4-(3-oxobut-1-en-1-yl) cyclohex-2-en-1-one*,

(E)-4-hydroxy-4-(3-hydroxybut-1-en-1-yl)-3,5,5-trimethylcyclohex-2-en-1-one, *2-cyclohexylethyl isobutyl phthalate*, *Ethyl (5-methylhexan-2-yl) phthalate*. Semua senyawa ligan uji memiliki nilai $\Delta G_{\text{binding}}$ yang cukup stabil terhadap reseptor EGFR.

Hasil prediksi toksisitas terdapat 17 senyawa dengan parameter *Cramer Rules* memiliki kategori toksisitas yang rendah (*Class I*) yaitu *2-(diethylamino)ethyl 4-amino-2-hydroxybenzoate*, *Bis(6-methylheptyl) phthalate*, *3,4,4-trimethyldihydrofuran-2(3H)-one*, *(E)-4-(2,6,6-trimethylcyclohexa-1,3-dien-1-yl)but-3-en-2-one*, *2,4-di-tert-butylphenol*, *(E)-4-hydroxy-4-(3-hydroxybut-1-en-1-yl)-3,5,5-trimethylcyclohex-2-en-1-one*, *Diethyl phthalate*, *1-(2-(1-hydroxyethyl)cyclohex-1-en-1-yl)ethan-1-one*, *Diisobutyl phthalate*, *2-cyclohexylethyl isobutyl phthalate*, *Dibutyl phthalate*, *1-(4-methylcyclohex-3-en-1-yl)ethan-1-one*, *(4-methylpentyl)cyclohexane*, *1,5-diethyl-2,3-dimethylcyclohexane*, *Pent-4-en-1-ylcyclohexane*, *3,5-di-tert-butylphenol*, dan *Ethyl (5-methylhexan-2-yl) phthalate*.

Diperoleh hasil senyawa terbaik yaitu *(E)-4-hydroxy-4-(3-hydroxybut-1-en-1-yl)-3,5,5-trimethylcyclohex-2-en-1-one* (RMSD 1.855 dan ΔG -5,4), ikatan residu asam amino spesifik seperti ligan natif dan kontrol positif, memenuhi kriteria *Lipinski's Rule of Five*, dan dalam

kategori toksisitas rendah (*class I*) berdasarkan *cramer rules*.

SARAN

Penelitian ini memberikan dasar yang menjanjikan untuk penelitian lebih lanjut tentang potensi sambiloto sebagai pengobatan untuk kanker paru-paru NSCLC dengan mutasi EGFR G719S. Langkah selanjutnya bisa melakukan studi *in vitro* (di laboratorium) untuk menguji aktivitas senyawa sambiloto terhadap sel kanker paru-paru dengan mutasi EGFR G719S. Melakukan studi *in vivo* (pada hewan) untuk menguji efektivitas dan keamanan senyawa Sambiloto dalam model kanker paru-paru. Dan jika studi *in vitro* dan *in vivo* berhasil, maka studi klinis pada manusia dapat dipertimbangkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbood, G. S., Awad, S., & Hussein, A. (2025). *Structural Alerts For The Prediction Of Drug Toxicity: A Mini-Review*. 434–437.
- Almeida, J. E., Oliveira, A. C. De, Eduardo, C., Alves, D. C., Monteiro, S., Filho, C., Cristina, E., Oliveira, P. De, Zuliani, J. P., & Pontes, G. S. (2025). *Diterpenes: Nature ' S Hidden Gems Of Immunomodulation*.
- Bosnić, Z., Šarić, B., Vučić, D., Kovačević, B., Marinić, N., & Volarić, M. (2021). *Alopecia In Preexisting Autoimmune Thyroid Disease In Family Medicine Practice: Can Hyperprolactinemia Induce Hair Loss? A Case Report*. 2(12), 75–77. <https://doi.org/10.15570/Actaapa.2021.18>
- Cornelissen, F. M. G., Markert, G., Deutsch, G., Antonara, M., Faaij, N., Bartelink, I., Noske, D., Vandertop, W. P., Bender, A., & Westerman, B. A. (2023). *Explaining Blood – Brain Barrier Permeability Of Small Molecules By Integrated Analysis Of Different Transport Mechanisms*.
- Fauzi, F. M., Wutsqa, Y. U., & Rohmatika, N. A. (2024). *Studi Bioavailabilitas Dan Molecular Docking Senyawa Fenolik Ocimum Sanctum L . Sebagai Inhibitor Reseptor Estrogen Alfa Pada Sel Kanker Payudara Bioavailability And Molecular Docking Study Of Phenolic Compounds Of Ocimum Sanctum L . As Estrogen Receptor Alpha Inhibitor*. 49–56.
- Klimoszek, D., Jele, M., & Dołowy, M. (2024). *Study Of The Lipophilicity And ADMET Parameters Of New Anticancer Diquinotiazines With Pharmacophore Substituents*.
- Lee, D., Kim, J., Cong, R., & Park, J. (2025). *Exploring Absorption Indices For A Variety Of Polyphenols Through Caco-2 Cell Model: Insights From Permeability Studies And Principal Component Analysis*. 2025(April). <https://doi.org/10.1002/Jsfa.14339>
- Li, D., Wu, T., Yu, P., Wang, Z., Xiao, W., Jiang, Y., & Zhao, L. (2020).

- Molecular Dynamics Analysis Of Binding Sites Of Epidermal Growth Factor Receptor Kinase Inhibitors.* <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c02183>
- Listyani, T. A., Herowati, R., & Djalil, A. D. (2019). Analisis Docking Molekuler Senyawa Derivat Phthalimide Sebagai Inhibitor Non-Nukleosida HIV-1 Reverse Transcriptase Molecular Docking Analysis Of Derivate Phthalimide Compounds As Non-Nucleosida HIV-1 Reverse Transcriptase Inhibitor. *15*(2), 123–134.
- Liu, J., Jiang, H., Liao, B., Cao, X., Yu, L., & Chen, X. (2023). Construction Of Single-Atom Catalysts For N , O Synergistic Coordination And Application To Electrocatalytic O 2 Reduction. 1–12.
- Nurfaidah, H. (2023). Studi In Silico Senyawa Asam Fenolat Jamur Tiram Putih (*Pleurotus Ostreatus (Jacq.) P.Kumm.*) Sebagai Inhibitor Tirosinase.
- Odhiambo, D. O., Omosa, L. K., Njagi, E. C., Gn, J., & Wekesa, E. N. (2025). In-Silico Pharmacokinetics ADME / Tox Analysis Of Phytochemicals From Genus *Dracaena* For Their Therapeutic Potential. *Scientific African*, *29*(June), E02796. <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2025.E02796>
- Parwatininghati, & R. (2023). Efek Samping Obat Gefitinib Pada Pasien Kanker Paru Dengan *Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR)* Mutasi Positif. 238–247. <https://doi.org/10.25077/jsfk.10.2.238-247.2023>
- Pratama, J. P., Kurniawati, N., & Erikania, S. (2023). Uji In Silico Senyawa Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa Bilimbi L .*) Sebagai Antikanker Kolorektal Serta Prediksi. *2019*, 25–40.
- Radwan, A. A., Alanazi, F., & Al-Dhfyhan, A. (2024). Bioinformatics-Driven Discovery Of Novel EGFR Kinase Inhibitors As Anti-Cancer Therapeutics: In Silico Screening And In Vitro Evaluation. 1–19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0298326>
- Rizky Resvita R. Bahi, Rina Herowati, N. H. (2020). Studi Biokemoinformatika Kandungan Kimia Daun Sambiloto (*Andrographis Paniculata (Burm . F .) Nees)* Sebagai Antihiperqlikemia Serta Prediksi Parameter Farmakokinetik Dan Toksisitas. *17*(02), 466–477.
- Shofa, Alam, & N. (2021). Uji Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Polar, Semipolar, Dan Non-Polar Daun Sambiloto (*Andrographis Paniculata*) Terhadap Sel Kanker Hati (Hepg2). *12*(1), 25–30.
- Thorén, L., Ackehed, G., Bergh, J., Molden, E., Kringen, M. K., Hall, P., Margolin, S., & Eliasson, E. (2021). Impairment Of Endoxifen Formation In Tamoxifen-Treated

Premenopausal Breast Cancer Patients Carrying Reduced- Function CYP2D6 Alleles. July 2020, 1243–1252.

<https://doi.org/10.1111/Bcp.14500>

Tia, S. T., & Luo, M. (2025). *Mapping The Role Of P-Gp In Multidrug Resistance: Insights From Recent Structural Studies.* 1–23.

Tiara Ajeng Listyani, A. D. (2025). Pendekatan Docking Molekuler Dan Prediksi Adme: Potensi Derivat Flavonoid Rosela (*Hibiscus Sabdariffa L .*) Sebagai Agen Antiobesitas Melalui Modulasi Reseptor Il-10. 5(2).

Wang, Y., Tu, M., & Yu, A. (2024). *Ef Fl Ux ABC Transporters In Drug Disposition And Their Posttranscriptional Gene Regulation By Micornas. July, 1–19.*
<https://doi.org/10.3389/Fphar.2024.1423416>