

Analisis *Network Pharmacology* Senyawa Metabolit Sekunder Tanaman Lengkuas (*Alpinia galanga*) pada Penyakit Kanker

Network Pharmacology Analysis of Secondary Metabolite Compounds of Galangal Plant (Alpinia galanga) in Cancer Disease

Dwi Hanif Muluqul Fath, M. Artabah Muchlisin, Ahmad Shobrun Jamil*

Program Studi Farmasi, Universitas Muhammadiyah Malang, Malang, Indonesia

*E-mail: shobrun@umm.ac.id

ABSTRAK

Kanker masih menjadi tantangan kesehatan yang berat di seluruh dunia, dengan mekanisme molekuler kompleks yang mendorong inisiasi, perkembangan, dan resistensi terapi. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis lebih lanjut senyawa metabolit sekunder *Alpinia galanga* (*A. galanga*) yang berpotensi sebagai antikanker. Analisis *network pharmacology* digunakan untuk mendapatkan gambaran bagaimana senyawa metabolit sekunder *A. galanga* berhubungan dengan penyakit kanker. Skrining senyawa *A. galanga* dilakukan dengan menggunakan aturan *Lipinski Rules of Five* untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder yang memenuhi kriteria, prediksi protein target dilakukan dengan *SwissTargetPrediction*, identifikasi protein yang berhubungan dengan kanker dilakukan dengan *GeneCards*, dan irisannya dilakukan dengan menggunakan *Venny*. *Network pharmacology* dianalisis menggunakan *String-DB*, hasilnya dilakukan pengayaan menggunakan *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) *pathway*, dan analisis prediksi protein yang paling berpengaruh dilakukan dengan menggunakan algoritma *Maximal Clique Centrality* (MCC). Berdasarkan hasil skrining diperoleh 30 senyawa yang memenuhi persyaratan *Lipinski Rules of Five*. Hasil analisa menggunakan *GeneCards* menunjukkan teridentifikasi sejumlah 24.513 protein terkait kanker. Protein yang diprediksi mampu berinteraksi dengan metabolit sekunder *A. galanga* sejumlah 489 protein dengan sejumlah 487 protein merupakan irisan dari keduanya. Analisis KEGG menunjukkan bahwa senyawa metabolit sekunder *A. galanga* berkaitan dengan beberapa jalur penyakit kanker dengan keterkaitan tertinggi pada kanker prostat yang memiliki nilai *False Discovery Rate* (FDR) 26,31876. Analisis dengan algoritma MCC menunjukkan terdapat sepuluh protein target utama yang berkaitan dengan penyakit kanker. Hasil dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa senyawa metabolit sekunder *A. galanga* memiliki potensi sebagai antikanker terutama pada kanker prostat dengan nilai FDR tertinggi.

Kata Kunci: *Alpinia galanga*, *GeneCards*, kanker, KEGG *pathway*, *network pharmacology*

ABSTRACT

Cancer remains a worldwide major health challenge, with complex molecular mechanisms driving initiation, progression, and therapy resistance. This research aims to further analyze the secondary metabolite compounds of *Alpinia galanga* (*A. galanga*) which have anti-cancer potential. *Network pharmacology* analysis was used to get how secondary metabolite compounds of *A. galanga* are related to cancer. *Alpinia galanga* compound screening was carried out using the *Lipinski Rules of Five* rule to obtain secondary metabolism compounds that met the criteria, target protein prediction was carried out using *SwissTargetPrediction*, identification of cancer-related proteins was carried out with *GeneCards*, and the intersection was carried out using *Venny*, *network pharmacology* was analyzed using *String-DB*, the results were enriched using the *Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (KEGG) *pathway*, and analysis of the most influential protein predictions was carried out using the *Maximal Clique Centrality* (MCC) algorithm. Based on the screening results, 30 compounds were obtained that met the requirements of *Lipinski Rules of Five*. KEGG analysis shows that *A. galanga* secondary metabolite compounds are related to several cancer pathways with prostate cancer being the cancer with the highest linkage with FDR value of 26.31876. Analysis with the MCC algorithm shows there are ten main target proteins associated with cancer. The results of this study can be concluded that the secondary metabolite compounds of *A. galanga* have potential as anticancer, especially in prostate cancer with the highest FDR value.

Keywords: *Alpinia galanga*, *GeneCards*, cancer, KEGG *pathway*, *network pharmacology*

Submitted: May 26th 2024 | 1st Revised: June 10th 2024 | 2nd Revised: June 11th 2024 |

Accepted: June 12th 2024 | Published: June 30th 2024

Pendahuluan

Kanker selalu menjadi salah satu tantangan paling signifikan dalam kasus kesehatan global. Kanker telah menjadi masalah kesehatan serius yang sulit dihindari dan banyak mengancam kesehatan orang dewasa maupun anak di Indonesia [1]. Di berbagai belahan dunia seperti Afrika, Asia, dan Amerika telah ditemukan lebih dari 60% kasus baru dan sekitar 70% kasus kematian akibat kanker. Kasus kanker tahunan diperkirakan akan meningkat dari 14 juta pada tahun 2012 menjadi 22 juta pada tahun 2032 [2]. Peningkatan ini telah terlihat di tingkat global dimana kasus kanker pada tahun 2018 sebesar 28,5% dengan risiko 18,1 juta kasus baru dan 9,6 juta kasus kematian. Kanker merupakan sekumpulan sel abnormal yang terbentuk oleh sel-sel yang tumbuh secara terus-menerus, hingga tidak terjaga atau terkontrol dengan jaringan sekitarnya dan tidak berguna secara fisiologis [3].

Alpinia galanga (L.) Willd., atau lengkuas yang termasuk dalam famili Zingiberaceae, merupakan tanaman obat asli Cina, India, dan negara-negara Asia Tenggara. *Alpinia galanga* memiliki rasa khas yang mirip dengan jahe dan sangat populer di Asia dan Eropa pada abad pertengahan. *Alpinia galanga* banyak digunakan sebagai penyedap makanan dan bahan alternatif pengobatan tradisional untuk berbagai penyakit karena banyak manfaat yang terkandung didalamnya [4], [5]. *Alpinia galanga* mengandung flavonoid dan minyak atsiri. Tanaman ini memiliki banyak aktivitas farmakologis termasuk antibakteri, antijamur, antivirus, antiprotzoa, imunomodulator, antidiabetes, antiplatelet, hipolipidemik, antikanker dan banyak efek farmakologis lainnya [5].

Pengujian aktivitas suatu senyawa dapat dilakukan melalui tiga pendekatan; uji *in silico*, *in vitro*, dan *in vivo*. Uji *in vivo* dan *in vitro* membutuhkan waktu dan biaya yang lebih besar dibandingkan dengan uji *in silico* [6]. Metode yang digunakan adalah studi deskriptif sehingga dapat menganalisis beberapa masalah terkait penyakit yang diteliti menggunakan model komputer [7]. Langkah dalam metode ini memberikan pandangan baru mengenai pengobatan di bidang medis dan terapeutik [8].

Network pharmacology memberikan dasar untuk sistem biologi yang kompleks dari perspektif jaringan. Kita dapat memahami keadaan kesehatan dan penyakit dalam tubuh dengan menentukan dan menganalisis biologi jaringan dan menggunakannya sebagai target untuk merancang metode intervensi obat yang efektif. Berdasarkan latar belakang tersebut maka penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengkonstruksi gambaran secara molekuler hubungan jejaring farmakologis senyawa kandungan *A. galanga* dengan protein target yang terlibat dalam proses penyakit kanker. Hasil penelitian ini diharapkan dapat dimanfaatkan untuk mengetahui target terapi dan optimalisasi kandungan senyawa *A. galanga* sebagai antikanker.

Bahan dan Metode

Bahan

Pengumpulan data identitas senyawa metabolit sekunder *A. galanga* dilakukan melalui KNApSACK. KNApSACK merupakan platform database yang dikenal kredibel dalam menyediakan data senyawa metabolit tanaman dengan koleksi yang terus ditambah [9]. Hasil pengambilan data dari

KNApSACK kemudian diunifikasi dengan melengkapi data dalam lembar kerja *Excel* terkait identitas senyawa berupa nama senyawa, *PubChem CID*, dan *Canonical Smile* serta data lain yang diperlukan. Selanjutnya sejumlah senyawa dalam KNApSACK diidentifikasi untuk mendapatkan senyawa dengan kemiripan obat yang tinggi sesuai dengan kriteria *Lipinski Rules of Five* melalui database *SwissADME* [10].

Metode

Analisis data dilakukan dengan beberapa metode database online meliputi: KNApSACK, *PubChem*, *SwissADME*, *SwissTargetPrediction*, *Venny*, *GeneCards* dan *String-DB*.

Pengambilan data protein terkait kanker dilakukan dengan pencarian melalui platform *GeneCards* [11]. Data protein yang berinteraksi dengan senyawa metabolit *A. galanga* didapatkan melalui *SwissTargetPrediction* [12]. Hasil penambatan protein dari dua database tersebut dianalisis irisan protein targetnya menggunakan platform *Venny* [13]. Selanjutnya konstruksi jejaring protein target kanker yang berinteraksi dengan senyawa *A. galanga* dibuat dengan platform *String-DB* dengan tujuan untuk melihat gambaran jejaring protein dan analisis jalur metabolisme, aktivitas biologis dan penyakit terkait protein hasil prediksi target [14], [15]. Hasil konstruksi jejaring tersebut selanjutnya dilakukan analisis KEGG *pathway* untuk melihat jalur pensinyalan biologis terkait kanker yang digambar secara manual untuk merepresentasikan pengetahuan tentang jejaring interaksi dan reaksi molekuler [16]. Selanjutnya dilakukan analisis protein-protein paling sentral dalam kanker dengan menggunakan platform *Cytoscape* yang diperkaya dengan fitur *CytoHubba*. Analisis sentralitas protein terkait kanker dianalisis dengan *CytoHubba* melalui seleksi berdasarkan algoritma *Maximal Clique Centrality* (MCC).

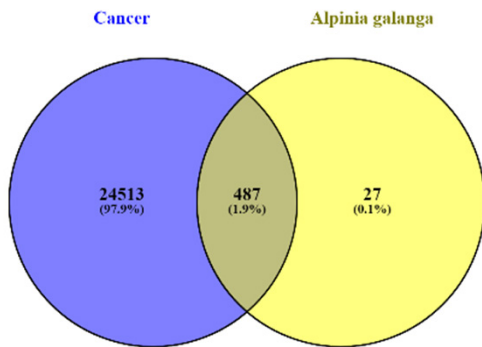
String-DB merupakan database yang menyediakan jaringan protein lebih dari 2.000 atau > 10.000 genom yang berbeda termasuk interaksi fisik dari adanya data eksperimen dan asosiasi fungsional, penambahan teks secara otomatis dan metode prediksi menginteraksi protein-protein yang ada [17]. Data yang dihasilkan *String-DB* selanjutnya dianalisis menggunakan KEGG *enrichment* yang membantu mengetahui fungsi seluler dan tingkat organisme dari data tingkat molekuler berskala besar, terutama dalam set gen dan genom. Analisis KEGG *pathway* dilakukan untuk mengkararakteristik proses dan jalur biologis terkait penyakit [16]. Kemudian data dimasukkan ke dalam *Cytoscape* yang merupakan platform yang memfasilitasi adanya visualisasi jaringan dengan profil ekspresi, fenotip dan juga status molekuler lainnya, sehingga fungsi utamanya ialah sebagai grafik jaringan [18]. Selanjutnya diamati protein yang paling penting pada tanaman yang berhubungan dengan kanker menggunakan fitur *CytoHubba* [19]. Platform *Cytoscape* digunakan untuk menganalisis sifat-sifat topologi dari model jaringan yang telah dibuat. Analisis topologi jaringan dari simpul-simpul utama dilakukan dengan menghitung distribusi dari sepuluh gen target yang paling sering muncul [20].

Hasil

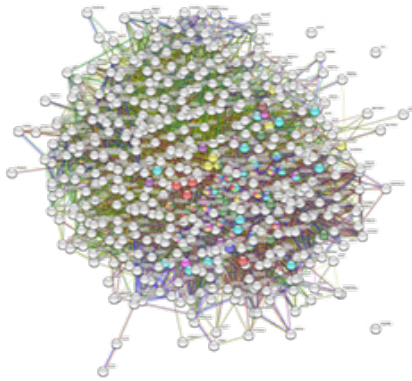
Data senyawa metabolit *A. galanga* yang diperoleh dari database KNApSACK hasil seleksi dengan platform *SwissADME* dan telah memenuhi kriteria *Lipinski Rules of Five* dapat diamati pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Data senyawa metabolit *A. galanga* yang diperoleh dari database KNApSACK hasil seleksi dengan platform *SwissADME* dan telah memenuhi kriteria *Lipinski Rules of Five*

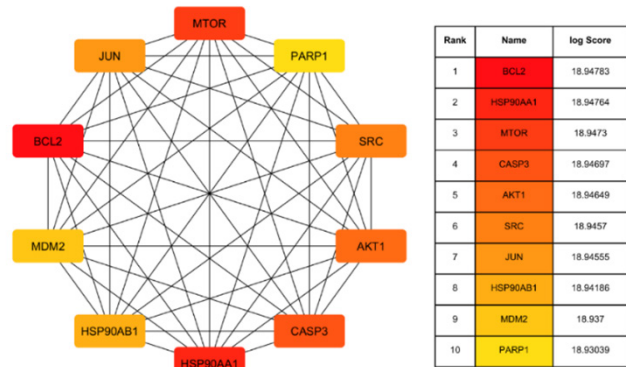
Metabolit	Berat molekul (g/mol)	Log P	Akseptor Hidrogen	Donor Hidrogen	<i>Lipinski Rules of Five</i>
	< 500	< 5	< 10	< 5	Yes
1'-Hydroxychavicol acetate	192,21	1,88	3	1	Yes
Bis(4-acetoxycinnamyl) ether	366,41	3,59	5	0	Yes
AG 11	302,45	4,07	2	1	Yes
1'-Acetoxyeugenol acetate.	266,29	1,57	5	0	Yes
Galanal B	318,45	2,85	3	1	Yes
1R,5R-(+)-alpha-Pinene	136,23	4,29	0	0	Yes
Galanolactone	318,45	3,75	3	0	Yes
Galanal A	318,45	2,85	3	1	Yes
Galanganol C	432,51	2,88	5	4	Yes
Galanganol B	300,35	2,12	4	4	Yes
Galanganol A	300,35	2,12	4	4	Yes
Galanganal	280,32	2,82	3	2	Yes
trans-p-Hydroxycinnamaldehyde	148,16	1,35	2	1	Yes
trans-p-Coumaryl diacetate	234,25	2,31	4	0	Yes
trans-p-Coumaryl alcohol	150,17	1,44	2	2	Yes
4(10)-Thujene	136,23	4,29	0	0	Yes
4-Terpineol	154,25	2,3	1	1	Yes
Aframodial	318,45	2,85	3	0	Yes
(E)-Labda-8(17),12-diene-15,16-dial	302,45	3,15	2	1	Yes
Origanol	154,25	2,3	1	1	Yes
Galangin	270,24	0,52	5	3	Yes
alpha-Caryophyllene (obsol.)	204,35	4,53	0	0	Yes
alpha-Farnesene	204,35	4,84	0	0	Yes
Methyleugenol	178,23	2,3	2	0	Yes
1'-Acetoxyeugenol acetate	266,29	1,57	5	0	Yes
1'-Acetoxychavicol acetate	234,25	2,31	4	0	Yes
4-Hydroxybenzaldehyde	122,12	0,79	2	1	Yes
(+)-Camphor	152,23	2,3	1	0	Yes
beta-Pinene	136,23	4,29	0	0	Yes
Eugenol	164,2	2,01	2	1	Yes



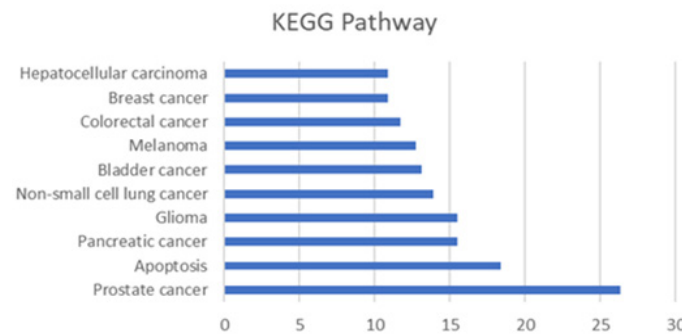
Gambar 1. Diagram *venn* yang menggambarkan jumlah protein yang berkorelasi dengan kanker (warna biru) dan protein yang berinteraksi dengan *A. galanga* (warna kuning). Interseksi antara keduanya (kuning gelap) adalah protein terkait kanker yang diprediksi berinteraksi dengan senyawa *A. galanga*



Gambar 2. Jejaring interaksi protein-protein dari 487 protein interseksi antara protein kanker dan protein target *A. galanga* yang diperoleh dari analisis *String-DB*



Gambar 3. Sepuluh protein paling sentral (berdasarkan analisis *MCC-CytoHubba* dalam platform *Cytoscape*) berhubungan dengan kanker dan merupakan target dari senyawa *A. galanga*



Gambar 4. Hasil analisis *KEGG pathways* dalam *String-DB* ditemukan sepuluh jalur pensinyalan kanker dengan jalur paling terpengaruh senyawa *A. galanga* adalah jalur kanker prostat

Tabel 2. Daftar kode protein hasil interseksi *Venny* antara protein yang diprediksi berinteraksi dengan metabolit sekunder *A. galanga* dan protein yang berkaitan dengan kanker

Tanaman	Kode Protein
<i>Alpinia galanga</i>	EGFR, MET, PIK3CA, ERBB2, BRAF, TERT, AKT1, KIT, PDGFRA, CDK4, AR, MTOR, EP300, MDM2, DHFR, JUN, MAPK1, IDH1, PPARG, VEGFA, SRC, PIK3R1, AURKA, BCL2, MAP2K1, CDK2, CYP17A1, PTPN11, ROCK1, PTGS2, EPHB2, CREBBP, EGLN1, RAF1, TYMS, MMP2, ABCB1, FGFR1, MMP9, CASP3, PGR, KDR, ABCG2, PARP1, IGF1R, CYP19A1, VDR, CYP2A6, JAK2, ESR2, MMP1, FLT1, ERBB4, FLT4, NQO1, CDK1, TOP2A, ABCC1, CHEK1, PIK3CG, PTK2, TGFBR1, MAPK3, TLR4, CDK6, CSF1R, PLK1, MAP2K2, ABL1, GSK3B, PDGFRB, MMP7, MAPK8, MCL1, TYMP, HSP90AA1, PLA2G2A, GLI1, CCNE1, CYP1B1, MAPK14, CCNB1, NQO2, APEX1, SERPINE1, PKM, EPHA2, PIK3CD, HDAC1, CCNA2, RELA, AHR, PIK3CB, PRKCA, NOS2, JAK1, CYP3A4, ALDH2, ELAVL1, PRKACA, COMT, CYP1A2, MMP3, DAPK1, ALDH1A1, TEK, TYR, IDO1, AXL, HSD17B1, SMO, CDC25A, PTK2B, PLCG1, INSR, HDAC2, MST1R, PTGS1, CHUK, EPAS1, HDAC4, EPHA3, FLT3, SHBG, HMOX1, MMP13, NOS3, PDPK1, HPGD, CHRNA3, F3, WEE1, MPO, IKBKB, NR3C1, CYP24A1, CFTR, ADAM17, CSNK2A1, JAK3, HDAC6, CXCR2, ALOX5, TGM2, CCNA1, PPAR, HDAC3, NTRK2, PPARA, ADH1C, PIN1, HSP90AB1, EIF2AK3, MAPK10, CCNE2, AHYC, HSP90B1, MAPK9, CXCR1, IL6ST, POLB, MMP12, ESRRA, PTK6, ANPEP, GLI2, PIMI, CTSL, PTPN1, SRD5A1, CYP2C19, SYK, NR4A1, ALOX12, CYP2C9, MYLK, AKR1B10, EPHA5, PRF1, HSD17B2, CSK, MAP2K5, TRPM8, EPHA1, TNK2, G6PD, FABP4, HDAC5, CDK5, CSNK2A2, PTGES, ESRRB, F2, LIMK1, CCNB2, PTP4A3, SREBF2, ADA, PLK4, GLO1, RORA, ROCK2, KAT2B, CSNK1D, LYN, NUDT1, PTPN6, CCR1, CTSK, BRD4, MMP8, NEK2, XDH, CDK8, CCR2, LCK, MAP3K7, ALOX15, NR1H4, ALKBH3, EEF2K, BMX, ARG1, MAPT, PRKCG, TTR, ST6GAL1, EPHB3, DDX3X, HSD17B3, PTGER2, ZAP70, MAOA, ESRRG, ACP1, PSMB5, EDNRB, TAB1, KIF11, P2RX7, MAPKAPK2, AKR1B1, YES1, GRM1, S1PR1, PFKFB3, CBR1, ACHE, PER2, CNR1, DUSP3, DYRK1B, CA2, PPIA, CD38, DAPK3, TSPO, FABP1, PTGER1, NR3C2, AOC3, KNG1, KCNQ1, SOAT1, VCP, CHRM3, DRD2, EPHA4, FABP3, FBP1, KCNH2, BRS3, OPRM1, RPS6KA3, RASGRP1, CTSC, TBK1, HDAC8, TNKS, TYRO3, IKBKG, DNNT, SLC6A3, SCD, ITGAL, APP, LTB4R, PIM2, ATP4A, PSEN1, REN, MPG, MAP2, BRD9, HDAC7, BRD2, HRR1, IMPDH2, TRPV1, F10, ALDH3A1, ATP12A, FABP5, ITK, PKN1, GPR35, CRHR1, TNKS2, CA12, CYSLTR1, ERN1, MGLL, HTR2A, BCHE, AVPR2, METAP2, NR113, DYRK1A, USP10, PRKCH, CCNB3, CCNC, PIM3, IRAK4, HTR2C, MAPK11, LRRK2, SLC9A1, BRD3, PNMT, MAP3K14, SLC6A4, CYP11B2, CAPN1, CLK2, TBXAS1, PTPN2, CYP11B1, GRK6, ATP4B, ALPL, DUT, HSD11B1, CNR2, NCSTN, SLC5A2, TDO, HRH3, FAAH, CETP, NOS1, CTSS, TRPV3, KCNMA1, HSD11B2, EPHA6, ADORA3, PTPRS, LIMK2, SCN9A, DRD4, FNTB, PYGL, PLA2G7, POLA1, CTSV, NR1H3, KCNA5, LTA4H, PSENEN, GPBAR1, PDE4D, USP13, ADORA2B, CTSC, CALCRL, PDE8B, TNNT2, MAPK15, CHRM1, MTNR1A, FDFT1, SERPINA6, PTPRF, PIK3C2B, ADORA1, ICMT, FCER2, FGR, CES1, R, A4, FNTA, CAMK2B, PDE5A, SQLE, APH1A, HTRA, TNNI3, AGPAT2, SLC5A1, OGA, TBXA2R, BLK, ADORA2A, ADRA1A, SIGMAR1, DGAT1, BRPF1, DRD3, MKNK2, ABCC9, OPRD1, PTAFR, RORC, APH1B, MKNK1, CES2, CRHR2, FUT7, CYP51A1, ADRA1B, GCK, CA1, KCNE1, ABAT, TNNC1, NAE1, COQ8B, PIK3C2G, TNNI3K, PDE4B, CLK4, MTNR1B, NPY5R, GRM4, CHRNA4, PLA2G1B, CACNA1C, CHRM2, TXK, GCGR, GRM5, CLK3, ALOX5AP, MAOB, RGS4, PDE4A, PIP4K2C, DCTPP1, P2RX3, HCRTR2, PGGT1B, HCRTR1, BACE1, CDK5R1, CFD, NAAA, QPCT, TTL, PDE7A, ADRA2A, CA4, PTGIR, DAO, CA3, CA6, NOX3, HCAR2, NPC1L1, TACR2, PDE9A, PDE4C, MAP3K19, ELOVL6, ABHD6, GRM2, KDM4E, GABRB3, GABRA1, GPR84, CHRM4, GALR3, CHRN2, GABRA5, GABRG2, SLC22A6, CA14.

Pembahasan

Teridentifikasi sejumlah 30 senyawa metabolit sekunder pada tanaman *A. galanga* yang ditemukan melalui KNApSACK. Database KNApSACK membantu sistemasi obat mentah dengan menyediakan informasi mengenai hubungan senyawa metabolit dan penggunaan obat dari tanaman berdasarkan pengetahuan tradisional dan pengetahuan modern [21]. Protein yang dapat berinteraksi dengan metabolit sekunder *A. galanga* diprediksi menggunakan platform *SwissTargetPrediction*, yang dapat dilihat jika hasil analisa probabilitas > 0 maka dapat dilanjutkan untuk mengetahui protein target sesuai dengan penyakit yang dianalisa [22]. Kemudian analisa prediksi sifat fisikokimia dilakukan menurut aturan *Lipinski Rules of Five* sebagai acuan solubilitas suatu senyawa dapat dikatakan menembus sel dengan difusi pasif dan apabila senyawa tidak memenuhi persyaratan, maka proses penyerapan obat secara oral dapat terganggu [23]. Setelah dilakukan analisis menurut aturan *Lipinski Rules of Five* didapatkan hasil sejumlah 30 senyawa metabolit sekunder dengan indikasi *Yes* yang dapat diamati pada **Tabel 1**. Dengan melihat syarat berat molekul < 500 , *lipohicity* (MLogP) < 5 , *H-bond acceptor* < 10 , *H-bond donors* < 5 , *rotatable bonds* < 10 , dan *Lipinski* terindikasi *Yes* dengan maksimum satu *violation* [24]. Syarat tersebut menjelaskan bahwa semakin tinggi kapasitas ikatan hidrogen *H-bond acceptor* dan *H-bond donors* maka akan semakin tinggi energi yang dibutuhkan oleh tubuh agar absorpsi dapat terjadi. Dapat dikatakan bahwa semua senyawa dengan berat molekul yang lebih dari 500 g/mol telah memenuhi syarat yang dapat menembus membrane sel dan nilai (MlogP) yang tidak lebih dari 5 dapat melewati membran lipid bilayer [25]. Dari hasil analisis *GeneCards*, ditemukan 24.513 protein yang terkait dengan kanker. Analisis menggunakan *Venny* pada **Gambar 1** menunjukkan terdapat 487 protein terkait dengan kanker diprediksi dapat berinteraksi dengan metabolit sekunder *A. galanga*.

Analisis Network Pharmacology

Dapat diamati pada **Gambar 2**, 487 protein terkait kanker yang diprediksi berinteraksi dengan senyawa *A. galanga* dianalisis menggunakan *String-DB*. *String-DB* merupakan database dengan lebih dari sembilan juta protein dari berbagai sumber yang dapat digunakan untuk memprediksi interaksi antar protein [26]. Analisis ini dilakukan untuk mendapatkan protein target yang terpilih dengan jalur biologis yang terkait dengan protein tersebut [27]. **Gambar 2** menunjukkan bahwa terdapat sejumlah 487 *nodes*, 7.300 *edges* dan *expected number of edges* sejumlah 3.571 sehingga dapat dikatakan bahwa protein memiliki lebih banyak interaksi di antara mereka sendiri daripada yang diharapkan untuk sekumpulan protein acak dengan ukuran dan distribusi derajat yang sama yang diambil dari genom. Pengayaan ini menunjukkan bahwa protein-protein tersebut setidaknya terhubung secara biologis sebagai sebuah kelompok.

Setelah mendapatkan daftar hasil protein dari keterkaitan senyawa metabolit dengan penyakit kanker melalui analisa diagram *venn* yang dapat diamati pada **Tabel 2**, dilakukan analisis KEGG *enrichment* dengan memilih sepuluh jalur berdasarkan nilai MCC atau nilai prediksi paling tinggi yang berhubungan dengan kanker. Analisis KEGG *enrichment* membantu mengidentifikasi jalur biologis yang terkait dengan

data gen atau protein [21]. Penilaian tersebut berdasarkan hasil analisis menggunakan *CytoHubba* sehingga didapatkan sepuluh protein yang paling mungkin berpengaruh terkait kanker. **Gambar 4** menyajikan data hasil analisis KEGG *pathway* mengenai hubungan metabolit sekunder dari *A. galanga* dengan *pathway-pathway* kanker yaitu karisnoma hepatoseluler, kanker pankreas, apoptosis, kanker kolorektar, melanoma, kanker kandung kemih, kanker payudara, kanker *non-small cell lung*, glioma, dan kanker prostat.

Data hasil KEGG *pathway* menunjukkan bahwa senyawa metabolit sekunder *A. galanga* paling berpengaruh pada kanker prostat. Hasil analisis ini didasarkan pada nilai *False Discovery Rate* (FDR), yaitu jumlah kemungkinan data yang memberikan nilai positif palsu yang diharapkan untuk ditolak. Semakin kecil nilai FDR, maka semakin akurat hasil analisisnya [28]. Didapatkan nilai FDR 26,31876, dan nilai FDR kanker lainnya berkisar antara 10,85078-18,39794. Nilai tersebut sesuai dengan *log score* hasil analisa *CytoHubba* pada **Gambar 3** yang menunjukkan hasil analisis MCC sepuluh protein target yang memiliki nilai prediksi tertinggi. Pada hasil KEGG *pathway* ini juga ditemukan bahwa metabolit sekunder *A. galanga* berhubungan dengan apoptosis atau kematian sel terprogram. Apoptosis atau kematian sel terprogram merupakan jalur yang terlibat menunjukkan bahwa regulasi kematian sel bisa menjadi target potensial untuk terapi kanker [29].

Analisis KEGG *pathway* mengidentifikasi jalur kritis terkait kanker dan apoptosis yang sangat berharga untuk memahami relevansi biologis menggunakan metode MCC untuk menyoroti sepuluh protein target utama terkait dengan kanker menambah kedalaman hasil, menekankan temuan yang paling signifikan.

Analisis Maximal Clique Centrality (MCC)

Analisis MCC dilakukan untuk mengetahui protein yang paling berperan dalam jejaring farmakologi. Dilakukan analisis *network pharmacology* dengan metode MCC dengan cara mencari kelompok protein yang membentuk jejaring tertutup. Kemudian, protein-protein dalam MCC ini dinilai berdasarkan sentralitasnya dalam sub-jaringan. Sentralitas ini mengukur seberapa penting sebuah protein dalam mempertahankan atau mempengaruhi koneksi dalam jaringan [19].

Muncul sebagai target protein penting untuk intervensi terapeutik dan investigasi lebih lanjut. Protein *B Cell Lymphoma 2* (BCL2) yang memiliki peran penting dalam mengatur apoptosis [30]. *Mouse Double Minute 2* (MDM2) dan *Mammalian Target of Rapamycin* (MTOR) yang merupakan pengatur utama pertumbuhan dan proliferasi sel, dengan peran penting dalam perkembangan kanker [31]. *Caspase 3* (CASP3) mewakili *gen hub* yang menarik dan terlibat dalam penghindaran kekebalan dan jalur apoptosis [32]. HSP90AA1 meningkatkan resistensi obat dengan menghambat apoptosis [33]. HSP90AB1 diekspresikan secara tinggi di HNSCC dan berhubungan dengan grade T, metastasis kelenjar getah bening, dan prognosis [34]. Hal ini sesuai dengan hasil KEGG *pathway* yang menunjukkan bahwa senyawa metabolit sekunder *A. galanga* berhubungan dengan jalur apoptosis yang diperkuat dengan analisis MCC. Beberapa protein penting yang berhubungan dengan apoptosis yaitu BCL2, HSP90AA1, MTOR, CASP3, AKT1, SRC, JUN, MDM2, HSP90AB1, dan PARP1. Hasil KEGG *pathway* menunjukkan bahwa data gen atau protein yang dianalisis terkait erat dengan berbagai jalur

kanker dan apoptosis. Hal ini memberikan petunjuk penting tentang mekanisme metode jejaring farmakologi yang bisa digunakan untuk mengembangkan strategi terapeutik baru.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, senyawa metabolit sekunder *A. galanga* berhubungan dengan banyak *pathway* kanker terutama *pathway* kanker prostat. Analisis MCC menunjukkan bahwa protein-protein yang paling penting dalam koneksi *network pharmacology* adalah protein yang berhubungan dengan apoptosis yang merupakan kematian sel terprogram terkait kanker seperti BCL2, HSP90AA1, MTOR, CASP3, AKT1, SRC, JUN, MDM2, HSP90AB1, dan PARP1.

Referensi

- [1] Hartini S, Winarsih BD, Nugroho EGZ. Peningkatan Pengetahuan Perawat Untuk Perawatan Anak Penderita Kanker. *J Pengabdian Kesehatan*. 2020;3(2):141–9. <https://doi.org/10.31596/jpk.v3i2.87>.
- [2] Suciati A, Maryati. Systematic Review: Anticancer Potential of Active Compounds from Galangal (*Alpinia galanga*) [Internet]. Vol. 3, Proceedings of the 4th International Conference Current Breakthrough in Pharmacy (ICB-Pharma 2022). Atlantis Press International BV; 2023. 269–282 p. Available from: http://dx.doi.org/10.2991/978-94-6463-050-3_23.
- [3] Nurhidayah I, Hendrawati S, S. Mediani H, Adistie F. Kualitas Hidup pada Anak dengan Kanker. *J Keperawatan Padjadjaran*. 2016;4(1):45–59. <https://doi.org/10.24198/jkp.v4n1.5>.
- [4] Chaudhary S, Hisham H, Mohamed D. A Review on Phytochemical and Pharmacological Potential of Watercress Plant. *Asian J Pharm Clin Res*. 2018;11(12):102–7. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2018.v11i12.29422>.
- [5] Eram S, Mujahid M, Bagga P, Ansari VA, Ahmad MA, Kumar A, et al. a Review on Phytopharmacological Activity of *Alpinia Galanga*. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2019;11(3):6–11. <https://doi.org/10.22159/ijpps.2019v11i3.31352>.
- [6] Makatita FA, Wardhani R, Nuraini. Riset In Silico dalam Pengembangan Sains di Bidang Pendidikan, Studi Kasus: Analisis Potensi Cendana Sebagai Agen Anti-Aging. *J ABDI*. 2020;2(1):59–67.
- [7] Adelina R. Mekanisme Katekin Sebagai Obat Antidislipidemia (Uji In Silico). *Bul Penelit Kesehatan*. 2018;46(3):147–54. <https://doi.org/10.22435/bpk.v46i3.899>.
- [8] Bare Y, Maulidi A, Ratih D, Sari T, Sulystyaningsih S, Daeng N. Studi in Silico Prediksi Potensi 6-Gingerol sebagai inhibitor c-Jun N-terminal kinases (JNK) Prediction Potential of 6-gingerol as c-Jun N-terminal kinases (JNK): In Silico approach. *J Jejaring Mat dan Sains*. 2019;1(2):59–63.
- [9] Lena N, Jamil AS, Muchlisin MA, Almutahrihan IF. Analisis Jejaring Farmakologi Tanaman Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) Sebagai Imunomodulator. *J Islam Pharm*. 2023 Jun 30;8(1):1–6. <https://doi.org/10.18860/jip.v8i1.20782>.
- [10] T MM, D R, Yaligar R, Jyothi R, G N, V RM. Swiss ADME Prediction of Phytochemicals Present in *Butea monosperma* (Lam.) Taub. ~ 1799 ~ *J Pharmacogn* Phytochem [Internet]. 2020;9(3):1799–809. Available from: www.phytojournal.com.
- [11] Stelzer G, Rosen N, Plaschkes I, Zimmerman S, Twik M, Fishilevich S, et al. The GeneCards suite: From Gene Data Mining to Disease Genome Sequence Analyses. *Curr Protoc Bioinforma*. 2016;2016:1.30.1-1.30.33. <https://doi.org/10.1002/cpbi.5>.
- [12] Safran M, Rosen N, Twik M, BarShir R, Stein TI, Dahary D, et al. The GeneCards Suite. *Pract Guid to Life Sci Databases*. 2022;27–56. https://doi.org/10.1007/978-981-16-5812-9_2.
- [13] Hur B, Kang D, Lee S, Moon JH, Lee G, Kim S. Venn-diaNet: Venn Diagram Based Network Propagation Analysis Framework for Comparing Multiple Biological Experiments. *BMC Bioinformatics* [Internet]. 2019;20(Suppl 23):1–12. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s12859-019-3302-7>.
- [14] Szklarczyk D, Gable AL, Nastou KC, Lyon D, Kirsch R, Pyysalo S, et al. The STRING database in 2021: Customizable Protein-protein Networks, and Functional Characterization of User-Uploaded Gene/Measurement sets. *Nucleic Acids Res*. 2021;49(D1):D605–12. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1074>.
- [15] Khoirunnisa A, Jamil AS, Muchlisin MA. Analisis Keterkaitan Network Pharmacology Senyawa Metabolit Sekunder *Abrus precatorius* L. Secara In Silico. *J Penelit Farm Herb*. 2024;6(2):15–22. <https://doi.org/10.36656/jpjh.v6i2.1686>.
- [16] Kanehisa M, Furumichi M, Sato Y, Kawashima M, Ishiguro-Watanabe M. KEGG for Taxonomy-based Analysis of Pathways and Genomes. *Nucleic Acids Res*. 2023;51(D1):D587–92. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac963>.
- [17] Szklarczyk D, Kirsch R, Koutrouli M, Nastou K, Mehryary F, Hachilif R, et al. The String Database in 2023: Protein-Protein Association Networks and Functional Enrichment Analyses for Any Sequenced Genome of Interest. *Nucleic Acids Res*. 2023;51(1 D):D638–46. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac1000>.
- [18] Doncheva NT, Morris JH, Gorodkin J, Jensen LJ. Cytoscape StringApp: Network Analysis and Visualization of Proteomics Data. *J Proteome Res*. 2019;18(2):623–32. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.8b00702>.
- [19] Chin CH, Chen SH, Wu HH, Ho CW, Ko MT, Lin CY. cytoHubba: Identifying Hub Objects and Sub-Networks from Complex Interactome. *BMC Syst Biol*. 2014;8(4). <https://doi.org/10.1186/1752-0509-8-S4-S11>.
- [20] Tao Q, Du J, Li X, Zeng J, Tan B, Xu J, et al. Network Pharmacology and Molecular Docking Analysis on Molecular Targets and Mechanisms of Huashi Baidu Formula in The Treatment of COVID-19. *Drug Dev Ind Pharm*. 2020;46(13):1345–53. <https://doi.org/10.1080/03639045.2020.1788070>.
- [21] Hartono Wijaya S, Tanaka Y, Altaf-UI-Amin M, Hirai Morita A, Mochamad Afendi F, Batubara I, et al. Utilization of KNApSACk Family Databases for Developing Herbal Medicine Systems. *J Comput Aided Chem*. 2016;17(0):1–7. <https://doi.org/10.2751/jcac.17.1>.
- [22] Daina A, Michielin O, Zoete V. SwissTargetPrediction: Updated Data and New Features for Efficient Prediction of Protein Targets of Small Molecules. *Nucleic Acids Res*.

- 2019;47(W1):W357–3664. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz382>.
- [23] Giménez BG, Santos MS, Ferrarini M, Dos Santos Fernandes JP. Evaluation of Blockbuster Drugs Under The Rule-of-Five. *Pharmazie*. 2010;65(2):148–52. <https://doi.org/10.1691/ph.2010.9733>.
- [24] 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*. 2001;46(1–3):3–26.
- [25] Rukmono, Rendra, Inarah Fajriaty, Hafrizal riza, Mitra Handini. Virtual Screening Metabolit Aktif Senyawa Asam dari Pacar Air (*Impatiens balsamina L.*) terhadap Reseptor Sulfonilurea. *J Mhs Farm Fak Kedokt UNTAN*. 2019;4(1):1–9.
- [26] Alghifari MR, Jamil AS. Insight into Jasminum sambac Molecular Docking Interaction with GSK related to Diabetes Mellitus. *Indones J Comput Biol*. 2023;2(1):40. <https://doi.org/10.24198/ijcb.v2i1.45616>.
- [27] Fauzi MA, Muchlisin MA, Jamil AS, Almutahrihan IF. A Network Pharmacology of Beluntas (*Pluchea indica*) on Immunity Cases. In: *Proceedings of International Pharmacy Ulul Albab Conference and Seminar (PLANAR)*. Malang; 2023. p. 77–92.
- [28] Siti D, Hentu RM, Muchlisin MA, Jamil AS, Juni E, Rafikayanti A. Potential Activity Of Secondary Metabolites Of Kawista (*Limonia Acidissima*) As Neurodegenerative Diseases : A Network Pharmacology Approaches. *J Eduhealth*. 2024;15(02):1246–58. <https://doi.org/10.54209/eduhealth.v15i02>.
- [29] Pistritto G, Trisciuglio D, Ceci C, Alessia Garufi, D’Orazi G. Apoptosis as Anticancer Mechanism: Function and Dysfunction of Its Modulators and Targeted Therapeutic Strategies. *Aging (Albany NY)*. 2016;8(4):603–19. <https://doi.org/10.18632/aging.100934>.
- [30] Qian S, Wei Z, Yang W, Huang J, Yang Y, Wang J. The Role of BCL-2 Family Proteins in Regulating Apoptosis and Cancer Therapy. *Front Oncol*. 2022;12:1–6. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.985363>.
- [31] Cui D, Qu R, Liu D, Xiong X, Liang T, Zhao Y. The Cross Talk Between p53 and mTOR Pathways in Response to Physiological and Genotoxic Stresses. *Front Cell Dev Biol*. 2021;9:1–11. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.775507>.
- [32] Song Y, Song W, Li Z, Song W, Wen Y, Li J, et al. CDC27 Promotes Tumor Progression and Affects PD-L1 Expression in T-Cell Lymphoblastic Lymphoma. *Front Oncol*. 2020;10(488):13. <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.00488>.
- [33] Xiao X, Wang W, Li Y, Yang D, Li X, Shen C, et al. HSP90AA1-Mediated Autophagy Promotes Drug Resistance in Osteosarcoma. *J Exp Clin Cancer Res*. 2018;37(201):13. <https://doi.org/10.1186/s13046-018-0880-6>.
- [34] Zhang H, Yin X, Zhang X, Zhou M, Xu W, Wei Z, et al. HSP90AB1 Promotes the Proliferation, Migration, and Glycolysis of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Technol Cancer Res Treat*. 2022;21:1–4. <https://doi.org/10.1177/15330338221118202>.