

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

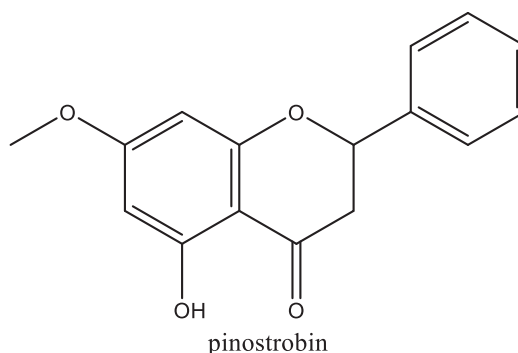
Berdasarkan data dari *Global Cancer Observatory* (Globocan) pada tahun 2020 di Indonesia, kasus baru kanker payudara pada wanita terjadi sebanyak 65.858 (30,8%) kasus. Kasus baru kanker payudara menduduki peringkat pertama dengan persentase 16,6% mengalahkan kanker serviks (9,2%) dan kematian yang disebabkan oleh kanker payudara menduduki peringkat kedua dengan persentase sebesar 9,6% (The Global Cancer Observatory, 2020).

Kanker payudara dapat dibedakan berdasarkan ekspresinya pada reseptor estrogen (ER), reseptor progesteron (PR), dan *Human Epidermal Growth Factor Receptor 2* (HER2/neu) (Siswandono and Diah, 2016). Berdasarkan ekspresinya tersebut, kanker payudara terbagi menjadi 5 sub-tipe antara lain, luminal A (ER+, PR+/-, HER2-), luminal B (ER+, PR+/-, HER2+), HER2-enriched, basal-like, dan normal-like (Almarzooq *et al.*, 2018; Dai *et al.*, 2017; Institute of Medicine, 2012; Munirah *et al.*, 2011; Yu *et al.*, 2017).

Pada umumnya terapi kanker meliputi radioterapi, kemoterapi, dan atau operasi (WHO, 2021). Akan tetapi, terapi tersebut masih memiliki beberapa kelemahan seperti radiasi yang tidak selektif dalam membunuh sel kanker; kemoterapi dengan 5-FU yang dapat menyebabkan diare dan kerontokkan atau dengan tamoksifen serta raloksifen yang dapat menyebabkan efek samping berbahaya seperti *stroke* dan kanker endometrium (Atun and Arianingrum, 2015; Institute of Medicine, 2012). Operasi dapat menjadi opsi, tetapi akan sulit pada terapi untuk kanker tahap awal metastasis. Sehingga, dibutuhkan inovasi pengembangan antikanker baru yang selektif dalam membunuh sel kanker.

Dalam pengembangan obat baru, tanaman herbal banyak menjadi pilihan khususnya untuk pengembangan terapi kanker. Selain memiliki efek samping yang lebih rendah, harganya juga lebih terjangkau. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antikanker yaitu temu kunci (Listyawati *et al.*, 2016).

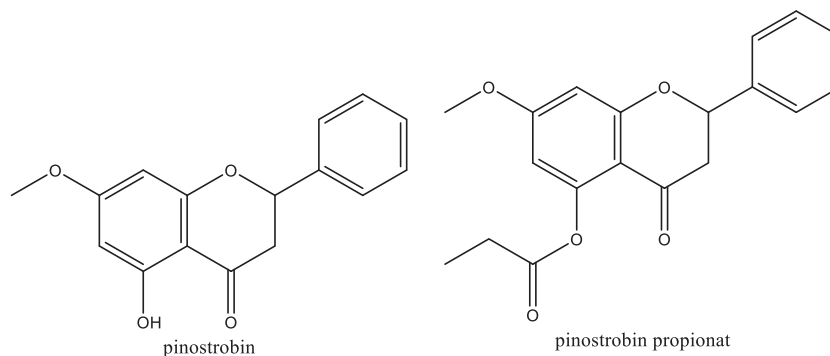
Temu kunci (*Boesenbergia pandurata*) merupakan bagian dari famili Zingiberaceae yang banyak ditemukan di kawasan Asia Tenggara (Chahyadi *et al.*, 2014). Dalam temu kunci, terdapat komponen fitokimia yang dapat berfungsi sebagai antibakteri, antikanker, antiinflamasi, dan antioksidan. Salah satu flavanon yang ditemukan yaitu pinostrobin, struktur ditunjukkan pada gambar 1.1, diketahui memiliki aktivitas antikanker yaitu induksi apoptosis pada sel kanker payudara (Fadilah *et al.*, 2018). Pada sel T47D, pinostrobin menyebabkan fragmentasi DNA dengan menghambat kerja enzim DNA topoisomerase yang berperan dalam proses replikasi, transkripsi, dan rekombinasi DNA serta proliferasi sel kanker. Proses penghambatan kerja enzim tersebut dapat membentuk *protein linked DNA breaks* (PLDB) sehingga DNA dari sel kanker akan rusak dan berujung pada matinya sel kanker (Sukardiman *et al.*, 2014).



Gambar 1.1 Struktur Senyawa Pinostrobin (*ChemDraw Professional*)

Pada rancangan suatu obat (*drug design*) secara rasional, aktivitas farmakologis suatu senyawa dapat diperbaiki menjadi lebih baik dengan melakukan modifikasi struktur berdasarkan parameter sifat fisika kimia. Parameter sifat fisika kimia yang digunakan yaitu parameter lipofilik (LogP), parameter elektronik (E_{tot}), dan parameter sterik (MR). Parameter lipofilik berkaitan dengan kemampuan suatu obat dalam menembus membran biologis yang berhubungan dengan proses absorpsi dan distribusi. Parameter elektronik berkaitan dengan besarnya aktivitas farmakologis yang ditimbulkan dari kekuatan interaksi obat dengan reseptornya. Sedangkan parameter sterik berkaitan dengan orientasi obat yang benar dimana berhubungan dengan maksimalnya interaksi obat dengan reseptornya sehingga mempengaruhi besarnya aktivitas suatu senyawa yang ditimbulkan, tetapi, adanya halangan sterik juga dapat menyebabkan interaksi obat-reseptor tidak stabil (Siswandono, 2016).

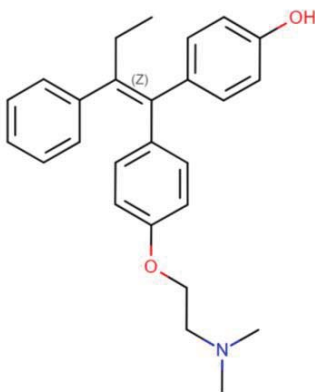
Sebelumnya, penelitian terkait pinostrobin menunjukkan bahwa aktivitas sitotoksiknya terhadap sel kanker masih rendah dibandingkan obat kanker payudara yang beredar (Atun and Arianingrum, 2015; Husnunnisa *et al.*, 2019; Rosmelia *et al.*, 2009). Kemudian didukung penelitian Jones & Gehler (2020), pinostrobin selektif menurunkan penyebaran sel kanker tetapi kurang berpengaruh pada kematian sel kanker. Walaupun telah banyak dilakukan penelitian terkait pinostrobin, penelitian terkait modifikasi strukturnya masih sangat jarang terutama senyawa pinostrobin propionat. Modifikasi struktur dengan menambahkan gugus asil dapat meningkatkan aktivitas antikanker pada payudara dimana pemilihan substituen berdasarkan parameter lipofilik, elektronik, dan sterik (Praditapuspa *et al.*, 2021). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Oxa (2021), aktivitas sitotoksik senyawa turunan pinostrobin (5-*O*-asetilpinostrobin) pada sel T47D dan selektivitasnya pada sel Vero lebih besar daripada senyawa pinostrobin yang dibuktikan dengan nilai IC_{50} 5-*O*-asetilpinostrobin sebesar 342 μ M, nilai IC_{50} pinostrobin sebesar 1835 μ M, dan nilai SI 5-*O*-asetilpinostrobin yaitu 3 lebih besar daripada nilai SI pinostrobin yaitu 2. Sehingga, penelitian lebih lanjut pinostrobin propionat layak menjadi pertimbangan karena diprediksi memiliki aktivitas antikanker lebih besar daripada pinostrobin. Struktur pinostrobin dan pinostrobin propionat ditunjukkan pada gambar 1.2.



Gambar 1.2 Struktur Pinostrobin dan Pinostrobin Propionat (*ChemDraw Professional*)

Uji pendahuluan secara *in silico* senyawa pinostrobin dan pinostrobin propionat menggunakan pendekatan *computer-aided drug design* (CADD). Program komputer yang digunakan yaitu pkCSM *online*. Senyawa pinostrobin memiliki nilai LD₅₀ sebesar 2,359 mol/kg (637,6 g/kg) dan senyawa pinostrobin propionat sebesar 2,543 mol/kg (829,9 g/kg). Kemudian, parameter-parameter sifat fisika kimia dari senyawa pinostrobin dan pinostrobin propionat ditentukan dengan *software ChemOffice Professional* ver 19.0. Senyawa pinostrobin memiliki nilai LogP sebesar 2,28; E_{tot} sebesar 46,2543 kkal/mol;

dan MR sebesar $75,29 \text{ cm}^3/\text{mol}$. Sedangkan senyawa pinostrobin propionat memiliki nilai LogP sebesar 2,91; E_{tot} sebesar 66,9378 kkal/mol; dan MR sebesar $89,42 \text{ cm}^3/\text{mol}$. Setelah itu, proses *docking* dilakukan dengan menggunakan program komputer *Molegro Virtual Docker* (MVD) ver 6.0 terhadap reseptor estrogen yang diambil dari *Protein Data Bank* (PDB) dengan kode PDB: 5W9C. Didapatkan ligan 4-hydroxytamoxifen yang memiliki struktur menyerupai pinostrobin. Struktur ligan ditunjukkan pada gambar 1.3.



Gambar 1.3 Struktur Ligan 4-hydroxytamoxifen (rcsb.org)

Berdasarkan hasil *docking* didapatkan nilai *Rerank Score* (RS) pinostrobin sebesar -76,3237 kkal/mol dan pinostrobin propionat sebesar -89,0797 kkal/mol. Dapat disimpulkan bahwa berdasarkan prediksinya secara *in silico*, senyawa pinostrobin propionat memiliki aktivitas antikanker yang lebih besar dengan toksisitas yang lebih rendah daripada pinostrobin. Sehingga aktivitas antikanker pinostrobin propionat layak untuk diteliti lebih lanjut secara *in vitro*.

Pada uji secara *in vitro*, pinostrobin dan pinostrobin propionat ditentukan aktivitas sitotoksiknya dengan menggunakan metode MTT {3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide} yang telah digunakan oleh Oxa (2021) pada penelitian sebelumnya. Metode MTT digunakan untuk menguji viabilitas sel berdasarkan konversi MTT (kuning) oleh mitokondrial dehidrogenase sel hidup menjadi formazan (ungu) (Kicuntod *et al.*, 2018; Sunil *et al.*, 2017). *Cell line* yang digunakan yaitu sel T47D yang tergolong sub-tipe luminal A dimana banyak terjadi pada pasien kanker (Munirah *et al.*, 2011). Penentuan aktivitas sitotoksik suatu senyawa dengan metode MTT dibuktikan dengan nilai *Inhibitory Concentration* (IC_{50}) dan *Cytotoxic Concentration* (CC_{50}). IC_{50} menunjukkan konsentrasi suatu senyawa dalam menghambat aktivitas sel kanker T47D hidup sebesar 50% (Rosmelia *et al.*, 2009). Semakin rendah nilai IC_{50} , maka aktivitas

antikanker semakin besar. CC_{50} menunjukkan konsentrasi senyawa dalam mengurangi viabilitas sel normal Vero sebesar 50% jika dibandingkan dengan kontrol yang tidak diberi perlakuan (*untreated controls*) (Barros *et al.*, 2012). Semakin tinggi nilai CC_{50} , maka aktivitas sitotoksik terhadap sel normal Vero semakin kecil. Pada penelitian ini juga dilakukan penentuan selektivitas untuk melihat apakah senyawa pinostrobin propionat lebih selektif membunuh sel kanker dibandingkan senyawa induknya. Penentuan selektivitas dilakukan dengan perhitungan *Selectivity Index* (SI) untuk melihat perbandingan nilai CC_{50} pada sel normal Vero terhadap IC_{50} pada sel kanker T47D dari senyawa pinostrobin dan pinostrobin propionat.

1.2 Rumusan Masalah

- (1) Apakah senyawa pinostrobin propionat memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker T47D yang lebih besar dibandingkan senyawa pinostrobin secara *in vitro*?
- (2) Apakah senyawa pinostrobin propionat memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel normal Vero yang lebih kecil dibandingkan senyawa pinostrobin secara *in vitro*?
- (3) Berapa nilai *selectivity index* (SI) senyawa pinostrobin propionat?

1.3 Tujuan Penelitian

- (1) Menentukan aktivitas sitotoksik senyawa pinostrobin propionat dan senyawa pinostrobin terhadap sel kanker T47D secara *in vitro*.
- (2) Menentukan aktivitas sitotoksik senyawa pinostrobin propionat dan senyawa pinostrobin terhadap sel normal Vero secara *in vitro*.
- (3) Menentukan nilai *selectivity index* (SI) senyawa pinostrobin propionat.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian senyawa turunan pinostrobin yaitu pinostrobin propionat diharapkan dapat memberikan aktivitas antikanker yang lebih besar dan lebih selektif daripada senyawa induknya melalui uji secara *in vitro* supaya dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai kandidat obat baru untuk kanker payudara setelah melalui proses uji preklinik dan klinik.