

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

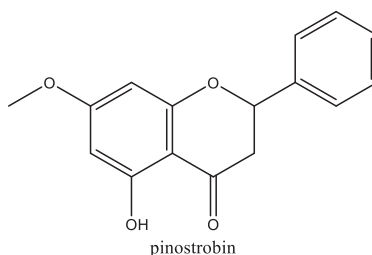
Penyakit kanker adalah salah satu penyakit yang memiliki tingkat kematian tertinggi di dunia. Pada tahun 2020, sebanyak 9,9 juta kasus kematian akibat kanker telah dilaporkan, 684 ribu diantaranya adalah kanker payudara. Selain itu, Kanker payudara memiliki kasus baru tertinggi dibandingkan jenis kanker lainnya pada tahun 2020 yaitu sebesar 2,26 juta kasus atau 11,7% dari total 19,26 juta kasus. Kanker payudara memiliki jumlah kasus baru tertinggi di Indonesia sebesar 65.858 kasus atau 16,6% dari total 396.914 kasus kanker (Globocan, 2020).

Kanker payudara merupakan tumor ganas yang ditemukan pada sel payudara dan merupakan kumpulan dari sel kanker yang dapat tumbuh dan menyerang bagian tubuh lainnya (Setiaji, 2018). Kanker payudara umumnya disebabkan oleh hiperproliferasi ductus yang kemudian berkembang menjadi tumor jinak atau bahkan karsinoma metastatik setelah berkali-kali dirangsang oleh berbagai faktor karsinogenik (Sun *et al.*, 2021).

Pengobatan kanker dilakukan dengan empat cara utama yaitu melalui pembedahan, fotoradiasi, kemoterapi dan imunoterapi (Rang, 2011). Pengobatan tersebut selain mahal, juga memiliki efek samping. Efek toksik yang sering muncul antara lain mual, muntah, tubuh terasa lemas, gangguan hematologis, gangguan gastrointestinal, toksisitas pada rambut, neurotoksisitas, toksisitas saluran kemih, kelainan metabolik, hepatotoksitas, sitotoksitas, kardiotoxiksisitas, toksisitas paru, toksisitas gonad, gangguan indera perasa kelainan otot dan saraf, kelainan pada darah, kulit kering, produksi hormon tidak stabil, dan lain-lain (Remesh, 2003). Pengobatan kanker dengan kemoterapi masih memiliki kelemahan karena selain membunuh sel kanker ia juga mempengaruhi sel-sel normal dengan tingkat proliferasi cepat, seperti folikel rambut, sumsum tulang dan sel-sel saluran pencernaan, menghasilkan efek samping kemoterapi yang khas. Sehingga, dibutuhkan penemuan pengobatan baru

yang selektif membunuh sel kanker tanpa mempengaruhi sel normal (Lander *et al.*, 2001)

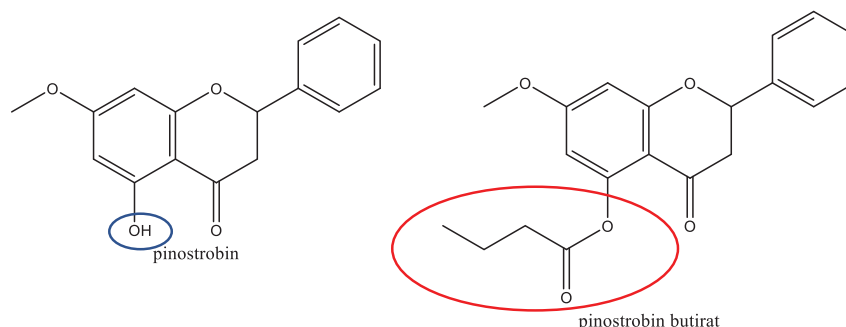
Pencarian alternatif obat antikanker dan penemuan senyawa bioaktif dari tanaman obat Indonesia dilakukan terhadap kultur sel kanker payudara manusia yaitu senyawa flavonoid pinostrobin dari rimpang temu kunci (*Kaempferia pandurata* Roxb) yang telah dilakukan oleh Sukardiman *et al.* (1999). Dalam penelitian tersebut telah diketahui bahwa senyawa pinostrobin dapat menghambat enzim DNA Topoisomerase, dimana enzim DNA Topoisomerase mempunyai fungsi yang penting dalam proses intraseluler, yaitu berperan dalam proses replikasi, transkripsi, rekombinasi DNA dan proses proliferasi dari sel kanker. Dengan dihambatnya aktivitas enzim DNA Topoisomerase oleh senyawa inhibitor, maka proses terjadinya ikatan antara enzim dengan DNA sel kanker semakin lama. Sehingga akan terbentuk *Protein Linked DNA Breaks* (PLDB), akibatnya terjadi fragmentasi DNA sel kanker dan selanjutnya berpengaruh terhadap proses didalam sel khususnya proses replikasi sel yang diakhiri dengan kematian sel kanker (Parwata, 2014). Pinostrobin dapat meningkatkan ekspresi gen p53 pada sel kanker payudara, dimana p53 merupakan tumor suppresor protein yang bertanggung jawab pada mekanisme apoptosis sel kanker yang akan menyebabkan terjadinya apoptosis dan terhambatnya proses angiogenesis (Parwata *et al.*, 2014). Pinostrobin memiliki aktivitas yang potensial sebagai antikanker pada kanker payudara. Namun, aktivitas tersebut masih lebih rendah dibandingkan obat antikanker payudara yang beredar di pasaran (Pratama *et al.*, 2019).



Gambar 1. 1 Struktur Pinostrobin (Chemdraw v20.1.1)

Modifikasi molekul ialah metode yang digunakan untuk menemukan obat baru dengan aktivitas yang diinginkan, antara lain yaitu meningkatkan aktivitas obat, menurunkan efek samping atau toksisitas, meningkatkan selektifitas obat,

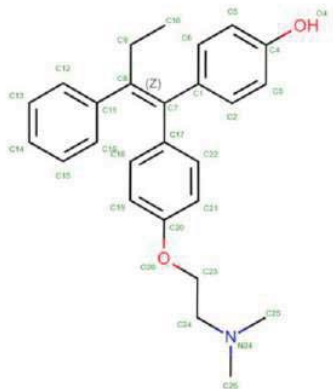
memperpanjang masa kerja obat, meningkatkan aseptabilitas penggunaan obat dan meningkatkan aspek ekonomis. Selain itu, modifikasi molekul akan lebih banyak menghemat biaya, karena untuk menemukan obat baru dengan aktivitas yang dikehendaki, faktor coba-coba diminimalkan sekecil mungkin sehingga jalur sintesis menjadi lebih pendek (Siswandono, 2016). Modifikasi pada atom oksigen yang berikatan pada karbon kelima cincin benzena pinostrobin yaitu penambahan gugus asetil menjadi 5-O-asetil pinostrobin sudah pernah dilakukan dan disintesis oleh Siswandono *et al.* (2018), kemudian diuji aktivitas sitotoksiknya oleh Oxa (2021) dan didapatkan IC_{50} 5-O-asetil pinostrobin sebesar 342 μM , sedangkan IC_{50} pinostrobin sebesar 1835 μM yang menunjukkan aktivitas sitotoksik 5-O-asetil pinostrobin lebih besar daripada pinostrobin. Selain itu indeks selektivitas dari 5-O-asetil pinostrobin lebih besar dari pinostrobin. Turunan pinostrobin lainnya yang telah dimodifikasi dan disintesis oleh Siswandono *et al.* (2018) salah satunya adalah pinostrobin butirat yang dimodifikasi dengan penambahan gugus butirat pada atom oksigen yang berikatan di karbon kelima cincin benzena pinostrobin menjadi pinostrobin butirat yang selanjutnya akan diuji aktivitas antikanker dan selektivitasnya pada penelitian ini.



Gambar 1. 2 Struktur Pinostrobbin dan Pinostrobin Butirat (Chemdraw 20.1.1)

Uji pendahuluan dilakukan untuk memprediksikan toksisitas pinostrobin dan pinostrobin butirat dilakukan dengan menggunakan *pkCSM Online*. Untuk uji toksisitas pinostrobin butirat didapatkan LD_{50} Sebesar 2.537 mol/kg (863,544 g/kg BB) sedangkan senyawa pinostrobin memiliki LD_{50} yang lebih rendah yaitu sebesar 2.359 mol/kg (637,59 g/kg BB). Parameter fisikokimia yang mempengaruhi efek farmakologis senyawa kimia dibagi menjadi tiga, yaitu parameter lipofilik (log P, ClogP, π dari Hanch, dan f dari Rekker-Mannhold), parameter elektronik (pKa, σ dari Hammett, E_{total} , E_{HOMO} , dan E_{LOMO}), dan parameter sterik (MR, CMR, BM, Es dari

Taft, dan B1 dari Verloop) (Siswandono, 2016). Sifat fisikokimia senyawa dapat diperoleh dengan menggunakan ChemDraw v20.1.1, sifat fisikokimia yang ditinjau diantaranya parameter lipofilik (LogP), parameter sterik (MR) dan parameter elektronik (E_{Total}). Pinostrobin butirat memiliki Log P sebesar 3,33; memiliki MR sebesar 94,02 cm^3/mol dan E_{total} sebesar 66,6182 kcal/mol. Sedangkan pinostrobin memiliki nilai Log P, MR dan E_{total} yang lebih rendah yaitu Log P sebesar 2,28; MR sebesar 75,29 cm^3/mol dan E_{total} sebesar 46,2368 kcal/mol. Peningkatan sifat lipofilik dikehendaki akan meningkatkan kemampuan senyawa dalam menembus membran biologis. Peningkatan sifat elektronik dikehendaki akan meningkatkan interaksi obat dengan reseptor karena dapat memperkuat ikatan obat-reseptor, sehingga meningkatkan efek farmakologis. Peningkatan sifat sterik dapat membantu obat untuk berinteraksi secara maksimal dengan reseptor sehingga akan meningkatkan aktivitas, tetapi sebaliknya, sifat sterik juga dapat memberikan halangan ruang pada proses interaksi obat-reseptor (Siswandono, 2016). Setelah diketahui parameter tersebut dilakukan *docking* menggunakan aplikasi *Molegro Virtual Docker* (MVD) senyawa pinostrobin dan pinostrobin butirat dengan reseptor estrogen alfa dengan kode PDB:5W9C yang didapatkan dari *Protein Data Bank* dengan ligan 4-hydroxytamoxifen yang memiliki struktur mirip dengan pinostrobin, didapatkan rata-rata rerank score pinostrobin sebesar -72,5487 kcal/mol. Untuk pinostrobin butirat didapatkan rata-rata *rerank score* yang lebih kecil dari senyawa induk pinostrobin yaitu sebesar -93,6329 kcal/mol. Sehingga, dapat diketahui aktivitas pinostrobin butirat lebih besar dari aktivitas pinostrobin dan penelitian layak untuk dilakukan uji selanjutnya yaitu uji *in-vitro*.



Gambar 1. 3 Struktur 4-hydroxytamoxifen (Protein Data Bank)

Senyawa pinostrobin dan pinostrobin butirat ditentukan aktivitas sitotoksiknya secara *in vitro* dengan metode MTT. Metode MTT pernah digunakan oleh penelitian terdahulu yaitu uji aktivitas antikanker yang dilakukan pada senyawa 5-O-Asetil pinostrobin terhadap *cell line* T47D dan sel normal vero oleh Oxa (2021) dan uji aktivitas antikanker yang dilakukan pada senyawa pinostrobin terhadap *cell line* T47D oleh Atun dan Arianingrum (2015). Metode MTT juga dipilih karena metode tersebut cepat, sensitif, serta paling umum digunakan dalam uji *in vitro* (Sitorus, 2013). Uji *in vitro* untuk menentukan aktivitas pinostrobin dan pinostrobin butirat dilakukan pada sel kanker payudara T47D dan sel normal vero. Sel T47D merupakan *continuous cell line* yang diisolasi dari jaringan tumor duktal payudara seorang wanita berusia 54 tahun. *Cell line* T47D termasuk pada subtype luminal A dengan marker ER+, PR+, HER2-, dan Ki-67. 4 Angka kejadian kanker payudara dengan subtype luminal A adalah sekitar 50-60% dari populasi penderita kanker payudara (Pertiwi, 2020). *Continuous cell line* sering dipakai dalam penelitian kanker secara *in vitro* karena mudah penangannya, memiliki kemampuan replikasi yang tidak terbatas, homogenitas yang tinggi serta mudah diganti dengan *frozen stock* jika terjadi kontaminasi (Burdall et al., 2003). Uji *in vitro* yang dilakukan akan memperoleh nilai IC₅₀ (*Inhibitory Concentration*) dari tiap senyawa yaitu besarnya konsentrasi yang dapat menghambat aktivitas sel kanker sebesar 50% dari aktivitas awal sebagai parameter sitotoksik. Uji selektivitas dilakukan untuk mengetahui apakah pinostrobin dan pinostrobin butirat bersifat sitotoksik kepada sel kanker saja atau dapat menyerang sel normal juga. Uji tersebut dilakukan dengan metode MTT pada sel vero yang nantinya akan menghasilkan nilai CC₅₀ (*Cytotoxic Concentration*) sebagai parameter selektivitas, yaitu besarnya konsentrasi yang dibutuhkan untuk mengurangi kelangsungan hidup sel sebanyak 50 % dibandingkan dengan kontrol. Selektivitas kemudian dihitung dengan menggunakan indeks selektivitas (SI) yang merupakan perbandingan nilai IC₅₀ tiap senyawa pada sel normal dan sel kanker (Oxa, 2021)

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah senyawa pinostrobin butirat memiliki aktivitas sitotoksik terhadap *cell line* T47D yang lebih besar daripada pinostrobin secara *in vitro*?
2. Apakah senyawa pinostrobin butirat memiliki aktivitas sitotoksik yang lebih kecil terhadap sel vero daripada pinostrobin secara *in vitro*?
3. Berapakah nilai indeks selektivitas pinostrobin butirat?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Memperoleh dan membuktikan aktivitas sitotoksik senyawa pinostrobin butirat terhadap *cell line* T47D yang lebih besar daripada pinostrobin secara *in vitro*
2. Memperoleh dan membuktikan aktivitas sitotoksik senyawa pinostrobin butirat yang lebih kecil terhadap sel vero daripada pinostrobin secara *in vitro*
3. Menentukan nilai indeks selektivitas pinostrobin butirat

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah terkait uji aktivitas dan uji selektivitas senyawa pinostrobin butirat secara *in vitro* untuk selanjutnya dikembangkan menjadi alternatif obat kanker payudara baru setelah melewati tahap pra klinik dan klinik.