

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Darah merupakan cairan tubuh vital penjaga kelangsungan kehidupan. Melalui sistem peredaran darah yang kompleks, setiap tetes darah mengalir ke seluruh tubuh, membawa oksigen dan nutrisi ke setiap sel tubuh, mengurangi resiko tubuh dari ancaman toksin, membantu memerangi infeksi patogen, dan membentuk benang fibrin saat tubuh terluka. Di dalam sumsum tulang, proses hematopoiesis terjadi. Proses ini menghasilkan sel-sel darah yang dibutuhkan oleh tubuh untuk menjalankan fungsi masing-masing organ. Gaya hidup modern yang sering kali disertai dengan pola makan yang tidak seimbang, kurangnya aktivitas fisik, stres, kebiasaan merokok, dan paparan radiasi radikal bebas dapat menimbulkan kerusakan pada sel yang berujung pada terjadinya mutasi gen, salah satunya dapat mempengaruhi kesehatan sel darah. Terjadinya kerusakan pada sel darah akan menyebabkan terjadinya mutasi pada peremajaan sel darah, kondisi tersebut merupakan pencetus terjadinya penyakit leukemia.

Leukemia atau yang biasa disebut kanker darah adalah sekelompok malignansi hematologi heterogen yang timbul akibat disfungsi proliferasi sel leukosit yang mempengaruhi pembentukan sel-sel darah (Chennamadhavuni et al., 2023). Leukemia mieloid akut (LMA) merupakan subtype leukemia yang lebih sering menyerang orang dewasa dan jumlahnya mencapai sekitar 80% dari semua kasus leukemia (Vakiti & Mewawalla, 2023). Kanker ini ditandai dengan kelainan genetik (Al-Rawashde et al., 2021), translokasi kromosom (Kumar & Bhushan, 2022), atau perubahan molekuler yang mengganggu proliferasi hematologi dan mengakibatkan sel mieloid berhenti berdiferensiasi pada bentuk sel blast (Diva et al., 2022), sehingga terjadi penumpukan sel *blast* imatur di dalam sumsum tulang, dan mengakibatkan gangguan proses hematopoiesis (Leukemia & Lymphoma Society, 2019). LMA adalah keganasan sel darah mieloid yang agresif, dengan lebih dari satu juta orang di seluruh dunia didiagnosis dengan penyakit ini setiap

tahunnya, dan telah menyebabkan 100.000 lebih kematian (Bultum et al., 2022). Menurut *American Cancer Society* untuk leukemia, pada tahun 2023 diperkirakan terdapat sekitar 20.380 kasus LMA baru di Amerika Serikat dengan jumlah sekitar 11.310 kematian (American Cancer Society, 2023).

Setiap jenis LMA mungkin memiliki mutasi DNA (gen) berbeda yang mempengaruhi perkembangannya dan pengobatan mana yang paling membantu. Penatalaksanaan LMA yang umum dilakukan kepada pasien adalah kemoterapi dan transplantasi sel punca (*stem cell transplants*) (Leukemia & Lymphoma Society, 2019). Pengobatan menggunakan kemoterapi bisa sangat efektif bagi sebagian orang namun tidak menyembuhkan semua orang, dan seringkali dapat menyebabkan efek samping yang serius atau bahkan mengancam jiwa, terutama pada pasien-pasien lanjut usia (American Cancer Society, 2023). Bahkan di beberapa kasus, efektivitas dari kemoterapi juga terbatas karena seiring berjalannya waktu sel leukemia akan menjadi resisten terhadap kemoterapi yang diberikan dan meningkatkan resiko kanker dan infeksi berikutnya (Egbuna et al., 2023). Penatalaksanaan LMA lain adalah dengan obat-obatan terapi tertarget (*targeted therapy drugs*) yang secara spesifik menargetkan mutasi gen yang terlihat di sel-sel leukemia. Mekanisme kerja obat-obatan ini berbeda dengan obat-obatan kemoterapi standar dan hanya sebagian kecil saja yang sudah disetujui oleh FDA (*Food and Drug Administration*), sehingga penelitian dan pengembangannya masih terus dipelajari hingga sekarang (American Cancer Society, 2023).

Tanaman mengandung senyawa kimia alami yang disebut fitokimia yang baik bagi kesehatan manusia maupun untuk pencegahan penyakit. Mereka tidak diperlukan untuk kelangsungan hidup tumbuhan, tetapi sering memiliki manfaat kesehatan bagi manusia yang mengonsumsi tumbuhan tersebut. Beberapa bertanggung jawab untuk warna sementara yang lain bertanggung jawab atas sifat organoleptik tanaman (Egbuna et al., 2023). Fitokimia dan metabolit turunannya terdapat pada akar, daun, bunga, batang, dan kulit kayu. Masing-masing dari mereka menunjukkan fungsi farmakologi yang berbeda dan beberapa di antaranya memiliki aktivitas antioksidan, antimikroba, antiinflamasi, dan bahkan antikanker, (Singh et al., 2016). Berbagai obat sitotoksik terkenal, seperti alkaloid Vinca (dari

Catharanthus roseus), podophyllotoxin (dari *Podophyllum*) dan paclitaxel (dari *Taxus brevifolia*) merupakan contoh senyawa fitokimia yang didapatkan dari tanaman yang berpotensi sebagai antikanker (Chohan et al., 2020).

Tanaman lain yang juga berpotensi memiliki aktivitas antikanker ialah tanaman yang berasal dari famili *Euphorbiaceae*, yaitu famili tanaman bunga terbesar yang tumbuh di daerah tropis dan terdiri lebih dari 300 genus dan 8000 spesies (Kemboi et al., 2020). Pemanfaatan spesies tanaman *Euphorbia* sebagai obat sangat beragam. Sebuah literatur mengindikasikan bahwa sebagian besar spesiesnya dapat digunakan dalam pengobatan penyakit mulai dari infeksi pernafasan, iritasi kulit, gangguan pencernaan, kelainan darah, inflamasi akibat infeksi, nyeri tubuh, penyakit gizi, cedera, endokrin, gangguan kehamilan/kelahiran/nifas, dan gangguan sensorik (Ernst et al., 2015). Aktivitas farmakologi tersebut berkaitan dengan kandungan beberapa metabolit sekunder di dalam tanaman, seperti terpenoid, flavonoid, kumarin, steroid, alkaloid, dan lain-lain. Penelitian-penelitian terkait aktivitas antikanker dan sitotoksik dari senyawa fitokimia tanaman genus *Euphorbia* pun telah dilakukan. Studi ini mengindikasikan bahwa ekstrak *Euphorbia* memiliki efek sitotoksik terutama terhadap sel-sel karsinoma leukemia, *fibroblastoma cell line*, pankreas, hati, lambung dan kolorektal (Aleksandrov et al., 2019).

Pakis giwang (*Euphorbia milii*) atau yang biasa dikenal sebagai tanaman mahkota duri merupakan salah satu spesies tanaman dari genus *Euphorbia*. Pakis giwang telah berhasil dimanfaatkan dalam waktu yang lama untuk menyembuhkan berbagai macam masalah kesehatan. Tanaman ini diketahui memiliki aktivitas antioksidan, antitumor, antimikroba, antibakteri, diuretik, sitotoksik, dan antivirus, berkat kandungan metabolit sekundernya yang melimpah, antara lain euphol, triterpen, flavonoid, saponin, gula, tanin, alkaloid, β -amirin asetat, β -sitosterol, sikloartenol, lupel, protein, glikosida, dan fenolik (Sagar & Bisht, 2021). Secara tradisional, tanaman ini telah digunakan di China untuk mengobati kanker, hepatitis, dan edema, sedangkan di Brasil, tanaman ini sering digunakan untuk mengobati *warts* (Al-qrimli & Jawad, 2022). Berdasarkan hasil skrining secara kualitatif dan uji DPPH yang telah dilakukan oleh Gapuz & Besagas (2018), di

dalam ekstrak daun pakis giwang diketahui mengandung senyawa fitokimia yang memiliki aktivitas antioksidan yang baik dalam melawan penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas. Sedangkan berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Rauf dkk. (2014), fraksi-fraksi yang terkandung di dalam bagian *aerial* tanaman pakis giwang memiliki aktivitas antioksidan yang potensial. Sebuah penelitian menggunakan *MTT assay* menunjukkan bahwa ekstrak daun pakis giwang memiliki efek antikanker dan berpotensi dalam menekan sel karsinoma paru-paru secara spesifik (Lin et al., 2019). Penelitian lain yakni secara *in vivo*, menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung di dalam ekstrak etil asetat bunga pakis giwang memiliki aktivitas antioksidan dan antitumor terhadap sel-sel yang diinduksi kanker payudara dan kanker kolon pada tikus (Sravanthi & Reddy, 2015). Melihat hal tersebut, pakis giwang dapat dianggap sebagai kandidat yang baik untuk antikanker masa depan, dan diprediksi dapat berpotensi sebagai antikanker dalam menekan leukemia mieloid akut.

Beragam penelitian mengenai potensi antikanker senyawa fitokimia terhadap reseptor spesifik LMA terus dilakukan dan dikembangkan dalam upaya mencari alternatif pengobatan yang lebih efektif dengan tingkat toksisitas yang lebih rendah. Namun, penemuan dan pengembangan senyawa obat baru merupakan proses yang sangat kompleks, beresiko, dan mahal dalam hal waktu, uang, dan tenaga. Secara umum, ditemukan bahwa proses penemuan dan pengembangan obat memakan waktu sekitar 10-14 tahun dengan total modal lebih dari 1 miliar dolar Amerika Serikat (Surabhi & Singh, 2018). Kemajuan teknologi memungkinkan agar penelitian dan pengembangan obat-obatan baru dapat berjalan lebih efisien dalam hal waktu dan biaya. Salah satu yang paling umum ialah dengan menggunakan pengujian *in silico*. Uji *in silico* dengan metode *molecular docking* merupakan pengujian berbasis komputasional yang digunakan sebagai tahap awal dalam pengembangan obat baru. Dalam uji ini, perangkat lunak komputer digunakan untuk memodelkan, mensimulasikan, dan menganalisis berbagai aspek kandidat obat tanpa melibatkan eksperimen laboratorium fisik (Pinzi & Rastelli, 2019).

FLT3, IDH2, dan BCL-2 merupakan target molekuler penting yang telah menjadi fokus penelitian dan pengembangan obat terapi tertarget untuk penyakit leukemia mieloid akut. FLT3 (*FMS-like tyrosine kinase 3*) merupakan reseptor tirosin transmembran dan termasuk dalam keluarga reseptor tirosin kinase tipe III, yang memainkan peran penting dalam mengatur proliferasi, diferensiasi, dan kelangsungan hidup sel induk hematopoietik normal (Hu et al., 2021). Reseptor ini paling sering bermutasi pada pasien leukemia mieloid akut yakni sekitar 30% (Kiyoi et al., 2019). Mutasi FLT3 menghasilkan aktivitas berlebih yang mendorong pertumbuhan sel-sel leukemik (Daver et al., 2019). Contoh obat yang disetujui FDA untuk pengobatan LMA yang berhubungan dengan mutasi FLT3 adalah gilteritinib. IDH2 (*isocitrate dehydrogenase 2*) adalah Enzim ini ditemukan di mitokondria, yang merupakan pusat penghasil energi di dalam sel (MedlinePlus, 2020). Mutasi IDH2 mewakili sekitar 8-19% dari seluruh kasus LMA, dan menghasilkan akumulasi senyawa 2-hidroksiglutarat yang berkontribusi pada pertumbuhan sel leukemik (Montalban-Bravo & DiNardo, 2018). Obat yang disetujui FDA untuk pengobatan LMA dengan mutasi IDH2 adalah enasidenib. BCL-2 (*B-cell lymphoma 2*) adalah gen yang mengatur kematian sel atau apoptosis. Ekspresi berlebih protein BCL-2 dapat menghambat kematian sel leukemik dan menyebabkan resistensi terhadap kemoterapi (Wen et al., 2020). Obat yang disetujui FDA untuk mengatasi ini adalah venetoclax. Pengembangan obat yang ditargetkan pada FLT3, IDH2, dan BCL-2 merupakan langkah penting dalam meningkatkan pengobatan LMA, dengan harapan meningkatkan prognosis pasien dengan jenis leukemia ini. Penerapan metode *in silico* dalam penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan lebih lanjut mengenai potensi antikanker dari senyawa fitokimia bunga pakis giwang sebagai kandidat obat baru dalam menekan leukemia mieloid akut.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan penjabaran latar belakang permasalahan di atas, rumusan masalah yang diperoleh ialah sebagai berikut:

1. Apa protein yang menjadi target molekuler untuk senyawa fitokimia bunga pakis giwang (*Euphorbia milii*) yang berpotensi dalam menghambat leukemia mieloid akut?
2. Apa saja senyawa aktif dari bunga pakis giwang (*Euphorbia milii*) yang berpotensi menduduki reseptor spesifik antileukemia mieloid akut?

1.3. Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah tersebut, maka tujuan dari pelaksanaan penelitian ini yaitu:

1. Mengetahui protein yang menjadi target molekuler untuk senyawa fitokimia bunga pakis giwang (*Euphorbia milii*) yang berpotensi dalam menghambat leukemia mieloid akut.
2. Mengetahui senyawa aktif dari bunga pakis giwang (*Euphorbia milii*) yang berpotensi menduduki reseptor spesifik antileukemia mieloid akut.



1.4. Manfaat

1.4.1. Manfaat teoritis

Dari segi teoritis, penelitian ini memiliki manfaat dalam pengembangan teori mengenai potensi antikanker senyawa bunga pakis giwang dalam menghambat leukemia mieloid akut secara *in silico*.

1.4.2. Manfaat praktis

Dari segi praktis, penelitian ini memiliki manfaat dalam peningkatan pengetahuan masyarakat mengenai pemanfaatan bunga pakis giwang sebagai kandidat obat dalam mengobati kanker leukemia mieloid akut.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

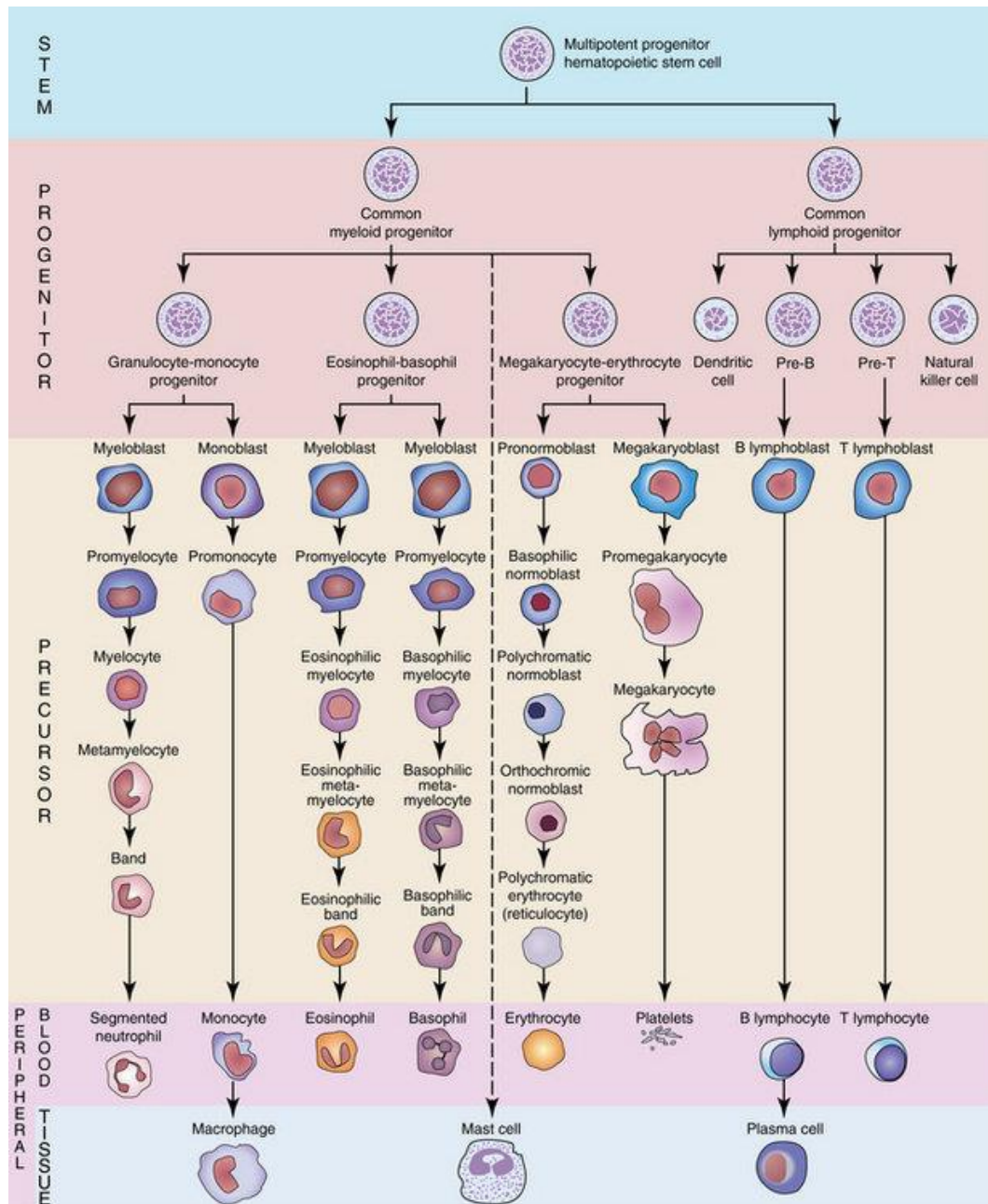
2.1. Leukemia Mieloid Akut (LMA)

2.1.1. Definisi LMA

Leukemia atau kanker darah adalah sekelompok malignansi hematologi heterogen yang timbul akibat disfungsi proliferasi sel leukosit yang mempengaruhi pembentukan sel-sel darah (Chennamadhavuni et al., 2023). Leukemia terdiri dari empat sub tipe yang dikelompokkan berdasarkan apakah leukemia itu akut (pertumbuhan cepat) atau kronis (pertumbuhan lambat), dan apakah dimulai pada sel mieloid atau sel limfoid (American Cancer Society, 2023). Keempat sub tipe tersebut ialah leukemia mieloid akut (LMA), leukemia mieloid kronik (LMK), leukemia limfoblastik akut (LLA), dan leukemia limfositik kronik (LLK).

Leukemia mieloid akut (LMA) adalah keganasan pada sumsum tulang yang ditandai dengan sel *blast* imatur yang terus melipatganda dan terhentinya diferensiasi sel induk mieloid (Shallis et al., 2019). Pada saat seseorang didiagnosis menderita LMA, jumlah sel darah merah, sel darah putih, dan trombosit yang sehat biasanya lebih rendah dari biasanya. Orang tersebut mungkin mengalami anemia, infeksi, atau sering mengalami pendarahan (Leukemia & Lymphoma Society, 2019). LMA merupakan sub tipe leukemia yang paling umum terjadi pada orang dewasa dan jumlahnya mencapai sekitar 80% dari semua kasus leukemia (Vakiti & Mewawalla, 2023). Ia juga merupakan keganasan sel darah mieloid yang agresif, dengan lebih dari satu juta orang di seluruh dunia didiagnosis dengan penyakit ini setiap tahunnya, dan telah menyebabkan lebih dari 100.000 kematian (Bultum et al., 2022). Menurut *American Cancer Society* untuk leukemia, pada tahun 2023 diperkirakan terdapat sekitar 20.380 kasus LMA baru di Amerika Serikat dengan jumlah sekitar 11.310 kematian (American Cancer Society, 2023).

2.1.2. Patofisiologi LMA



Sumber: (Rodak & Carr, 2013)

Gambar 2. 1 Tahapan hematopoiesis

Leukemia mieloid akut (LMA) ditandai dengan adanya kelainan genetik (Al-Rawashde et al., 2021), translokasi kromosom (Kumar & Bhushan, 2022), atau perubahan molekuler yang mengganggu proliferasi hematologi dan mengakibatkan sel mieloid berhenti berdiferensiasi pada bentuk sel *blast* (Diva et al., 2022). Dalam sumsum tulang yang sehat, sel induk menjadi sel darah matang melalui proses

diferensiasi. Namun, pada orang dengan LMA, serangkaian mutasi pada materi genetik (DNA) sel induk mieloid mengakibatkan pembentukan sel leukemia, yakni sel *blast* imatur yang tertahan pada tahap awal perkembangan sel. Sel-sel ini juga disebut sebagai “sel LMA”, tidak dapat berkembang menjadi sel darah yang berfungsi penuh, dan terus melipatganda secara tidak terkendali. Sel *blast* leukemik dengan cepat menumpuk di sumsum tulang dan menghambat atau menekan perkembangan sel darah sehat. Akibatnya, terdapat terlalu banyak sel *blast* yang tidak dapat berfungsi dan terlalu sedikit sel darah matang yang berfungsi (Leukemia & Lymphoma Society, 2019). Penyebab pasti dari mutasi genetik masih belum diketahui dengan pasti, tetapi ada beberapa faktor risiko yang terkait, seperti paparan radiasi, agen kemoterapi, dan asap rokok. (Vakiti & Mewawalla, 2023).

2.1.3. Penatalaksanaan LMA

Penatalaksanaan LMA yang umum dilakukan kepada pasien adalah kemoterapi dan transplantasi sel punca (*stem cell transplants*) (Leukemia & Lymphoma Society, 2019). Pengobatan menggunakan kemoterapi bisa sangat efektif bagi sebagian orang namun tidak menyembuhkan semua orang, dan seringkali dapat menyebabkan efek samping yang serius atau bahkan mengancam jiwa, terutama pada pasien-pasien lanjut usia (American Cancer Society, 2023). Bahkan di beberapa kasus, efektivitas dari kemoterapi juga terbatas karena seiring berjalannya waktu sel leukemia akan menjadi resisten terhadap kemoterapi yang diberikan dan meningkatkan resiko kanker dan infeksi berikutnya (Egbuna et al., 2023).

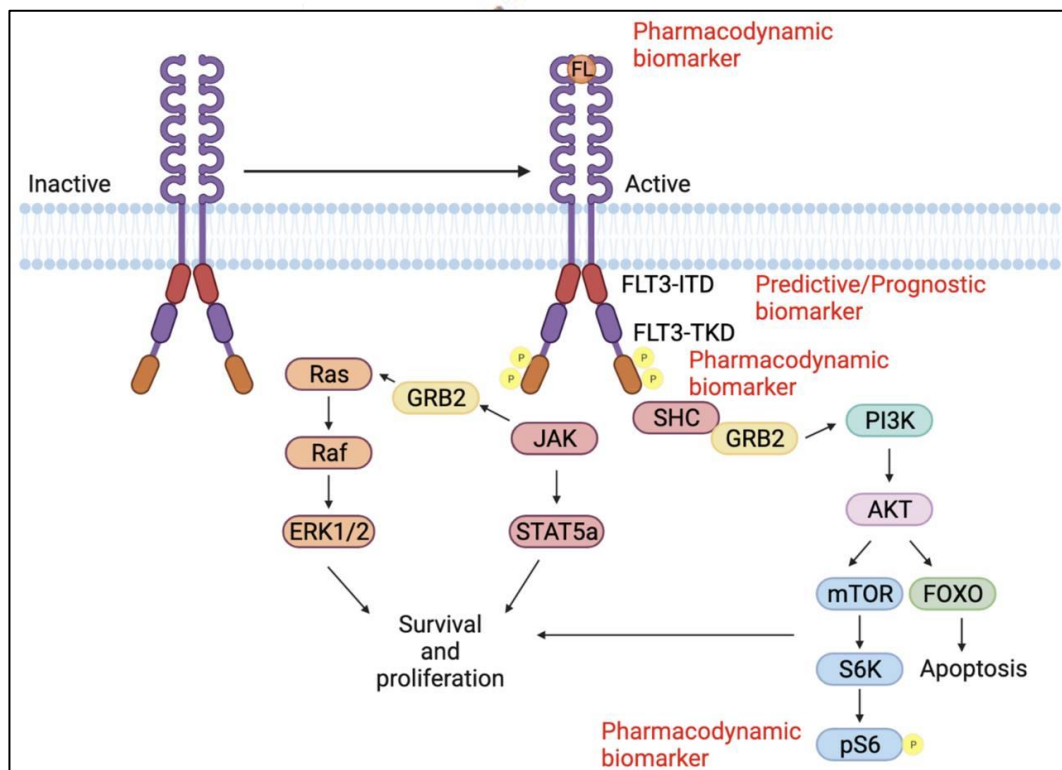
Penatalaksanaan LMA lain adalah dengan obat-obatan terapi target (*targeted therapy drugs*) yang secara spesifik menargetkan mutasi gen yang terlihat di sel-sel leukemia. Obat-obatan ini memiliki mekanisme kerja yang berbeda dengan obat-obatan kemoterapi standar dan hanya sebagian kecil saja yang sudah disetujui oleh FDA (*Food and Drug Association*), sehingga penelitian dan pengembangannya masih terus dipelajari hingga sekarang. Beberapa contoh obat-obatan terapi tertarget yang telah disetujui di antaranya yaitu, FLT3 *inhibitors* seperti midostaurin (Rydapt®), quizartinib (Vanflyta®), dan gilteritinib (Xospata®); IDH *inhibitors* seperti enasidenib (Idhifa®), olutasidenib (Rezlidhia®), dan ivosidenib

(Tibsovo®); serta BCL-2 *inhibitors* seperti Venetoclax (Venclexta®) (American Cancer Society, 2023).

2.2. Target Molekuler LMA

2.2.1. *FMS-like tyrosine kinase 3* (FLT3)

FLT3 (*FMS-like tyrosine kinase 3*) adalah reseptor tirosin transmembran dan termasuk dalam keluarga reseptor tirosin kinase tipe III, yang memainkan peran penting dalam mengatur proliferasi, diferensiasi, dan kelangsungan hidup sel induk hematopoietik normal (Hu et al., 2021). Reseptor ini paling sering bermutasi pada pasien leukemia mieloid akut yakni sekitar 30% (Kiyoi et al., 2019). Gen FLT3 terletak di kromosom 13q12 dan mempunyai 24 ekson (Nitika, 2021).



Sumber: (Nitika, 2021)

Gambar 2. 2 Jalur persinyalan FLT3

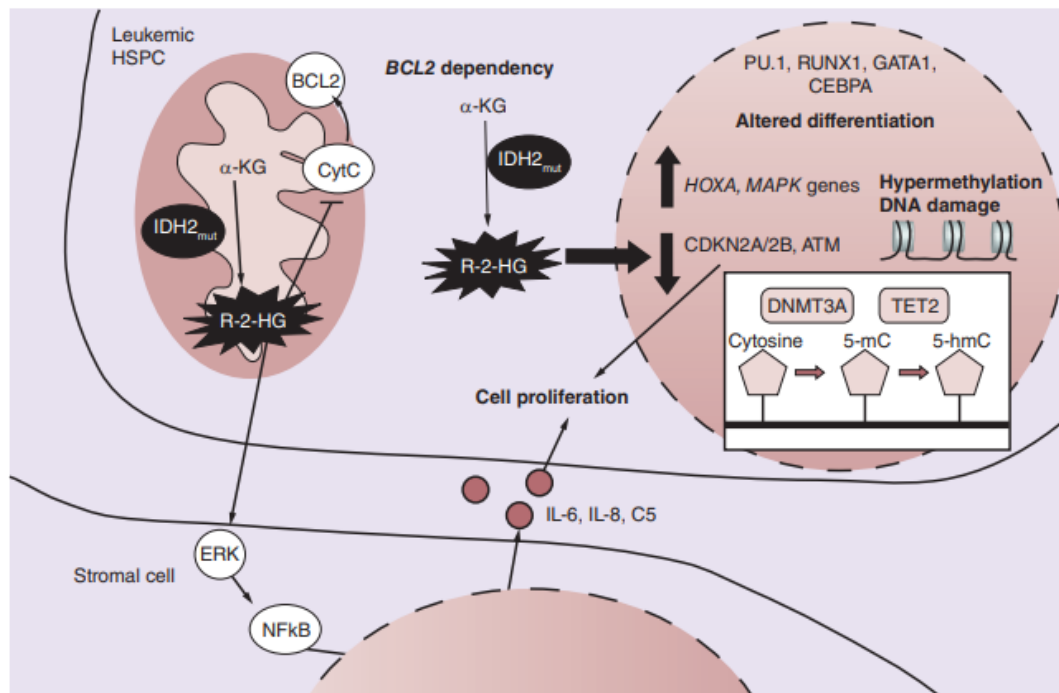
Gen FLT3 memberikan instruksi untuk membuat protein yang disebut *fms-like tyrosine kinase 3* (FLT3), yang merupakan bagian dari keluarga protein yang disebut *receptor tyrosine kinases* (RTKs). Reseptor tirosin kinase mengirimkan sinyal dari permukaan sel ke dalam sel melalui proses yang disebut transduksi

sinyal. Protein FLT3 ditemukan di membran luar jenis sel tertentu di mana protein spesifik yang disebut ligan FLT3, atau FL, dapat menempel (mengikat) padanya. Pengikatan ini mengaktifkan protein FLT3, yang selanjutnya mengaktifkan serangkaian protein di dalam sel yang merupakan bagian dari beberapa jalur pensinyalan. Jalur pensinyalan yang distimulasi oleh protein FLT3 mengontrol banyak proses seluler penting seperti pertumbuhan dan pembelahan (proliferasi) serta kelangsungan hidup sel, khususnya sel darah awal yang disebut sel induk hematopoietik (MedlinePlus, 2014).

Mutasi pada gen FLT3 dapat menyebabkan aktivasi berlebihan dari reseptor tersebut, mengakibatkan pertumbuhan sel darah yang tidak terkendali, sehingga memicu proliferasi sel mieloid yang abnormal dan berkontribusi pada perkembangan LMA. Oleh karena itu, penghambatan pensinyalan FLT3 adalah salah satu teknik untuk menangani leukemia mieloid akut (Diva et al., 2022).

2.2.2. Isocitrate dehydrogenase 2 (IDH2)

Gen IDH2 memberikan instruksi untuk membuat enzim yang disebut isositrat dehidrogenase 2. Enzim ini ditemukan di mitokondria, yang merupakan pusat penghasil energi di dalam sel. Di dalam mitokondria, enzim berpartisipasi dalam reaksi yang menghasilkan energi untuk aktivitas sel. Secara khusus, isositrat dehidrogenase 2 biasanya mengubah senyawa yang disebut isositrat menjadi senyawa lain yang disebut 2-ketoglutarat. Serangkaian enzim tambahan memproses lebih lanjut 2-ketoglutarat untuk menghasilkan energi. Reaksi konversi juga menghasilkan molekul yang disebut NADPH, yang diperlukan untuk banyak proses seluler dan membantu melindungi sel dari molekul yang berpotensi berbahaya yang disebut spesies oksigen reaktif (MedlinePlus, 2020). Mutasi pada gen IDH1 dan IDH2 telah diidentifikasi dalam beberapa jenis kanker, termasuk leukemia mieloid akut (Bultum et al., 2022). Leukemia mutan IDH2 mewakili sekitar 8-19% dari seluruh kasus LMA dengan peningkatan prevalensi pada populasi pasien beresiko menengah dan lebih tua. (Montalban-Bravo & DiNardo, 2018).



Sumber: (Montalban-Bravo & DiNardo, 2018)

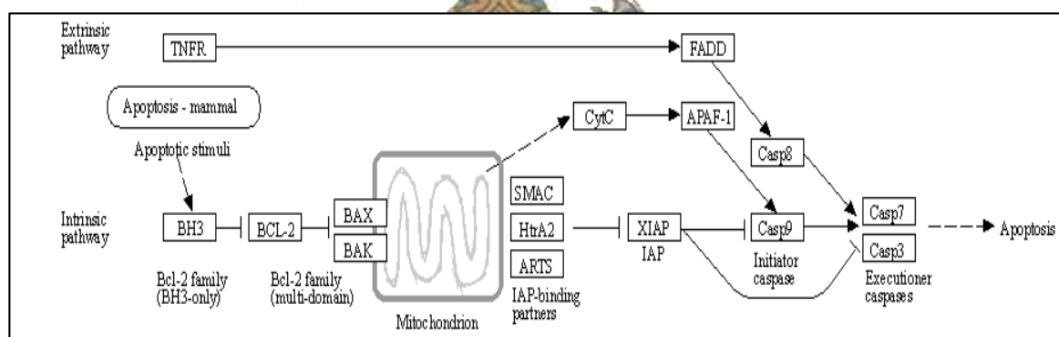
Gambar 2. 3 Mutasi IDH2 pada leukemia mieloid akut

Mutasi IDH2 menyebabkan protein mutan dengan fungsi neomorfik yang menghasilkan produksi onkometabolit, R-2-HG (R-enantiomer dari 2-hidroksilglutarat). Sebagai hasil dari proses ini, penghambatan TET2 menyebabkan perubahan metilasi DNA dan histon serta hipermetilasi DNA. Perubahan ekspresi gen melalui PU.1, RUNX1, GATA1, CEBPA dan faktor transkripsi lainnya menyebabkan ekspresi berlebihan pada sinyal MAPK dan gen HOXA, serta ekspresi rendah pada ATM dan CDKN2A/2B. Perubahan ini mengakibatkan gangguan diferensiasi, proliferasi sel, dan kerusakan DNA. Sekresi R-2-HG oleh sel leukemia mengaktifkan pensinyalan ERK dan NFκB dalam sel stroma yang menyebabkan produksi IL-6, IL-8 dan C5 yang merangsang proliferasi sel leukemia. Penghambatan oksidase sitokrom C oleh R-2-HG menyebabkan ketergantungan BCL-2 (Montalban-Bravo & DiNardo, 2018).

2.2.3. *B-cell lymphoma 2* (BCL-2)

BCL-2 (*B-cell lymphoma 2*) adalah gen yang mengodekan protein anti-apoptosis yang berperan dalam mengatur kematian sel program atau apoptosis, yang memainkan peran penting dalam mencegah perkembangan kanker. Fungsi

utama BCL-2 adalah mencegah sel-sel dari mengalami apoptosis, yang merupakan proses normal yang menghilangkan sel-sel yang rusak atau tidak dibutuhkan dalam tubuh. Namun, ketika ekspresi BCL-2 berlebihan atau terlalu aktif, hal ini dapat menyebabkan ketidakseimbangan dalam regulasi apoptosis dan berkontribusi pada perkembangan berbagai jenis kanker. Khususnya, peningkatan ekspresi BCL-2 sering terkait dengan kanker darah, seperti leukemia, serta kanker payudara dan kanker prostat (Perini et al., 2018). Pengembangan obat-obatan yang menghambat aktivitas BCL-2 telah menjadi area penelitian yang penting dalam pengobatan kanker, dengan tujuan menginduksi apoptosis dalam sel-sel kanker yang mengandung ekspresi berlebihan BCL-2 dan membantu mengendalikan pertumbuhan kanker (Rahman et al., 2021).



Sumber: (Kegg Pathway, 2023)
Gambar 2. 4 Jalur persinyalan BCL-2

2.3. Pakis Giwang (*Euphorbia milii*)

Pakis giwang (*Euphorbia milii*) atau yang dikenal dengan nama “*Christ thorn*” (mahkota duri) merupakan salah satu spesies tanaman obat dari genus *Euphorbia*. Pakis giwang adalah tanaman perdu berbunga yang berasal dari Madagaskar dan tersebar di seluruh Brazil, India, Pakistan, Cina, Nigeria, Myanmar, Filipina, Nepal, dan daerah tropis lainnya, termasuk Indonesia. Di Indonesia, tanaman ini umumnya dijadikan tanaman hias karena keindahan bunganya. Kata *milii* berasal dari nama Baron Milius, gubernur Pulau Bourbon, yang memasukkan pakis giwang ke dalam budidaya di Perancis pada tahun 1821 (Al-qrimli & Jawad, 2022).

2.3.1. Klasifikasi

Kerajaan : *Plantae*
 Sub kerajaan : *Tracheobionta*
 Super divisi : *Spermatophyta*
 Kelas : *Magnoliophyta*
 Sub kelas : *Rosidae*
 Ordo : *Euphorbiales*
 Famili : *Euphorbiaceae* Juss.
 Genus : *Euphorbia* L.
 Spesies : *Euphorbia milii*

2.3.2. Morfologi

Pakis giwang merupakan tumbuhan perdu berkayu dan berbunga yang memiliki batang padat dan berduri yang tumbuh hingga panjang hampir 2 meter. Daun hijau bulat tanaman ini banyak ditemukan pada pertumbuhan baru. Bunganya kecil dan menarik, memiliki kelopak yang mencolok seperti daun yang disebut *bracts*, dan bisa berwarna merah, merah muda, atau putih. Getah yang lengket dapat terlihat jika bocor jika ada daun yang terlepas dari batangnya. Akarnya padat dengan warna putih kekrem (Al-qimli & Jawad, 2022).

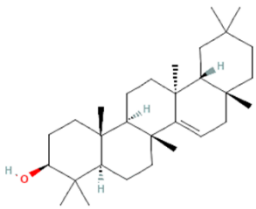
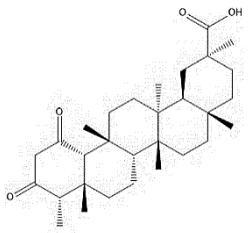
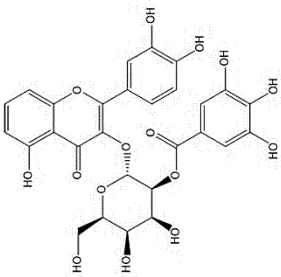


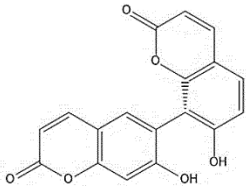
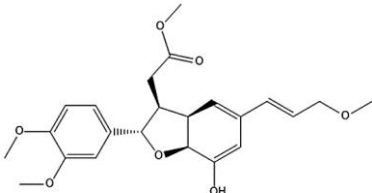
Gambar 2. 5 Tanaman bunga pakis giwang (*Euphorbia milii*)

2.3.3. Senyawa fitokimia bunga pakis giwang (*Euphorbia milii*)

Berdasarkan skrining fitokimia yang telah dilakukan oleh Kamurthy dan Dontha (2015), bunga pakis giwang diketahui memiliki dua senyawa triterpenoid, yakni taraxerol dan *28-hydroxyfriedelan-1,3-dione-29-oic acid* (EM1), satu senyawa flavon yakni *quercetin 3-O-(2''-O-galloyl)-α-L-arabinofuranoside* (EM2), serta dua senyawa fenol yakni *7, 7'- dihydroxy, 8, 6'-bicoumarin* (EM3) dan *9-acetyl-3'4'-dimethoxy dehydroconiferyl-3-alcohol* (EM4). Berikut adalah struktur dua dimensi dari kelima senyawa fitokimia yang terkandung di dalam bunga pakis giwang:

Tabel 2. 1 Struktur dua dimensi senyawa fitokimia bunga pakis giwang

No	Struktur	Nama (Kode)
1	 	Taraxerol
2	 	EM1
3		EM2

No	Struktur	Nama (Kode)
4		EM3
5		EM4

Sumber: (Kamurthy & Dontha, 2015)

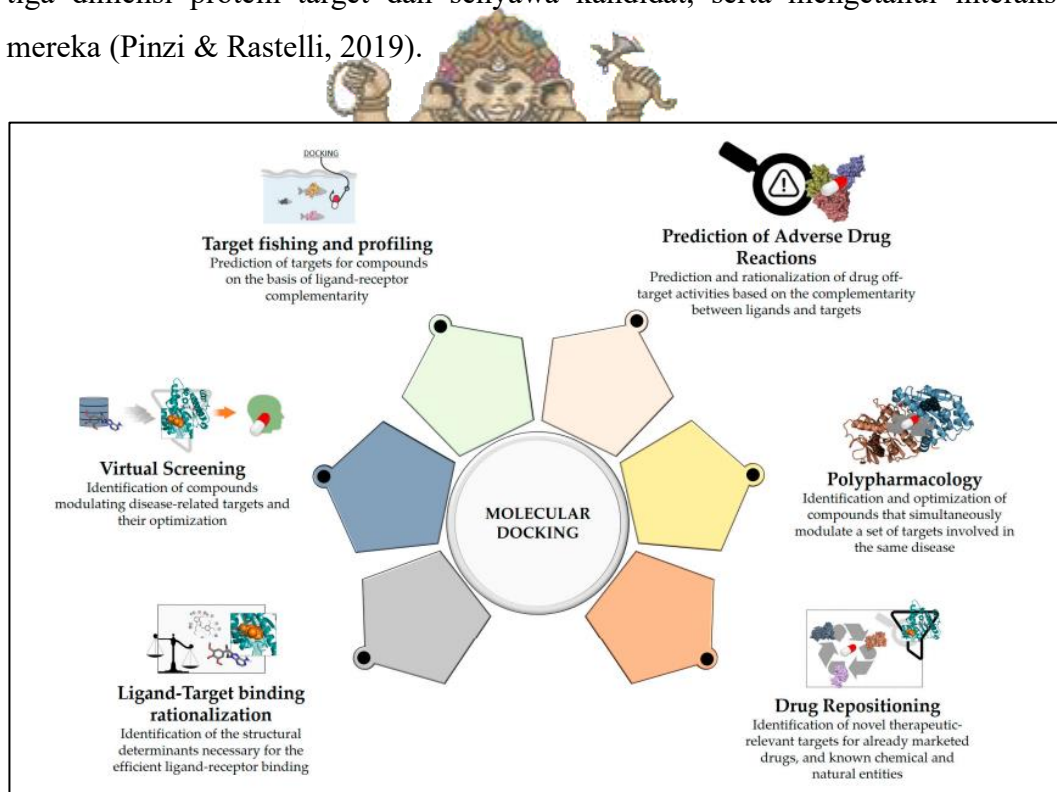
2.3.4. Aktivitas antikanker bunga pakis giwang

Pemanfaatan tanaman pakis giwang telah dilakukan dalam waktu yang lama untuk menyembuhkan berbagai macam masalah kesehatan. Tanaman ini diketahui memiliki aktivitas antioksidan, antitumor, antimikroba, antibakteri, diuretik, sitotoksik, dan antivirus, berkat kandungan metabolit sekundernya yang melimpah, antara lain euphol, triterpen, flavonoid, saponin, gula, tanin, alkaloid, β -amirin asetat, β -sitosterol, sikloartenol, lupel, protein, glikosida, dan fenolik (Sagar & Bisht, 2021). Secara tradisional, tanaman ini telah digunakan di China untuk mengobati kanker, hepatitis, dan edema, sedangkan di Brasil, tanaman ini sering digunakan untuk mengobati *warts* (Al-qrimli & Jawad, 2022). Berdasarkan hasil skrining secara kualitatif dan uji DPPH yang telah dilakukan oleh Gapuz & Besagas (2018), di dalam ekstrak daun pakis giwang diketahui mengandung senyawa fitokimia yang memiliki aktivitas antioksidan yang baik dalam melawan penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas. Sedangkan berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Rauf dkk. (2014), fraksi-fraksi yang terkandung di dalam bagian *aerial* tanaman pakis giwang memiliki aktivitas antioksidan yang potensial. Sebuah penelitian menggunakan MTT assay menunjukkan bahwa ekstrak daun pakis giwang memiliki efek antikanker dan berpotensi dalam menekan sel karsinoma paru-paru secara spesifik (Lin et al., 2019). Penelitian lain yakni secara *in vivo*,

menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung di dalam ekstrak etil asetat bunga pakis giwang memiliki aktivitas antioksidan dan antitumor terhadap sel-sel yang diinduksi kanker payudara dan kanker kolon pada tikus (Sravanthi & Reddy, 2015).

2.4. Uji *In Silico* dan *Molecular Docking*

Uji *in silico* merupakan pengujian berbasis komputasional yang digunakan sebagai tahap awal dalam pengembangan obat baru. Dalam uji ini, perangkat lunak komputer digunakan untuk memodelkan, mensimulasikan, dan menganalisis berbagai aspek kandidat obat tanpa melibatkan eksperimen laboratorium fisik. Uji *in silico* memanfaatkan teknik pemodelan molekuler untuk memprediksi struktur tiga dimensi protein target dan senyawa kandidat, serta mengetahui interaksi mereka (Pinzi & Rastelli, 2019).



Sumber: (Pinzi & Rastelli, 2019)

Gambar 2. 6 Aplikasi *molecular docking* dalam penemuan obat saat ini

Teknik *molecular docking* merupakan salah satu metode *in silico* yang umum dilakukan. Prinsip utama dalam pengujian *molecular docking* adalah untuk memodelkan dan memahami interaksi antara molekul-molekul, seperti protein dan ligan (senyawa obat), dengan menggunakan simulasi berbasis komputasi. Teknik

ini memanfaatkan perhitungan matematis dan parameter fisiko-kimia untuk memprediksi bagaimana molekul-molekul tersebut saling berinteraksi dan berikatan satu sama lain. Prinsipnya adalah mencari konformasi atau posisi relatif terbaik antara ligan dan protein target yang menghasilkan energi bebas terendah atau skor tertinggi, yang mengindikasikan kemungkinan pengikatan yang kuat (El-Hachem et al., 2017).

Sejak kemunculan pertamanya pada pertengahan tahun 1970-an, *molecular docking* telah terbukti menjadi alat penting dalam membantu memahami bagaimana senyawa kimia berinteraksi dengan target molekulnya, mengidentifikasi senyawa-senyawa kandidat yang memiliki potensi sebagai obat dengan cara yang efisien, serta memungkinkan penghematan waktu dan biaya dalam penemuan dan pengembangan obat baru (Pinzi & Rastelli, 2019).

2.4.1. *Autodock dan AutoDockTools (ADT)*

Autodock adalah perangkat lunak untuk mensimulasikan pemodelan molekul yang efektif dalam proses *docking* protein-ligan dan merupakan salah satu alat *docking* paling akurat. Selain itu, *Autodock* merupakan perangkat lunak dengan sumber terbuka (*open source*), yang membuatnya tersedia untuk umum tanpa biaya. Di sisi lain, *AutoDockTools* (ADT) adalah tampilan grafis (*front-end*) untuk menyiapkan dan menjalankan *AutoDock*. *AutoDockTool* menggabungkan akurasi dalam menentukan pose ikatan senyawa kimia dengan makromolekul reseptor yang sesuai dan menyediakan solusi perangkat lunak yang gratis, sehingga membuat para peneliti tertarik pada komputasi *docking*. Protokol *docking* pada umumnya terdiri dari empat langkah utama. Pertama, persiapan ligan dan targetnya (terkadang memerlukan langkah-langkah rumit tergantung pada sifat ligan dan/atau targetnya). Kedua, persiapan parameter *docking* dan skoring (*file* yang harus dibuat untuk menjalankan *Autodock*, antara lain *file* parameter *grid*, *file* peta, *file* parameter *docking*). Ketiga, menjalankan program *docking* menggunakan grafis antarmuka atau baris perintah terminal antarmuka (misalnya *AutoDock*). Keempat, analisis dan evaluasi hasil *docking* (membandingkan pose *docking* dengan ligan yang mengkristal). Pengevaluasian energi pengikatan (*binding energy*) dilakukan dengan menggunakan prosedur perhitungan *grid* (*AutoGrid*). Kemudian, energi pengikatan

ligan dievaluasi berdasarkan nilai yang dihasilkan dari interaksi perhitungan *grid* yang ditetapkan (El-Hachem et al., 2017).

2.4.2. RCSB PDB

The Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank (RCSB PDB) merupakan salah satu bank data akses terbuka (*open-access*) yang telah terakreditasi dan paling sering digunakan di seluruh dunia. RCSB PDB memungkinkan peneliti dari seluruh dunia untuk mencari, mengunduh, dan menganalisis struktur biologis ini untuk keperluan penelitian dalam berbagai bidang ilmu biologi, biokimia, dan ilmu farmasi. Sebanyak lebih dari 60.000 ahli biologi struktural telah menyumbangkan datanya ke arsip PDB, dan jutaan peneliti, pendidik, dan mahasiswa yang bekerja di bidang biologi dasar, biomedis, bioteknologi, dan ilmu energi telah menggunakan PDB. Terdapat sekitar 200.000 data mengenai struktur tiga dimensi makromolekul biologis seperti protein, asam nukleat, dan karbohidrat beserta kompleksnya dengan molekul ligan tersedia di dalam situs ini. Data-data tersebut diarsipkan secara konsisten, divalidasi secara ketat, dan dibiokurasi secara ahli (Burley et al., 2023).

2.4.3. Swiss Target Prediction

SwissTargetPrediction adalah sebuah alat komputasi berbasis situs (*web-based tool*) yang digunakan untuk memprediksi potensi target molekuler dari senyawa kimia tertentu. Alat ini mengintegrasikan berbagai metode dan data yang digunakan untuk mengidentifikasi kemungkinan interaksi antara senyawa kimia dengan berbagai target molekuler dalam konteks penelitian obat. *SwissTargetPrediction* berguna dalam penemuan obat dan penelitian biologi molekuler dengan membantu para peneliti dalam memahami bagaimana senyawa-senyawa tertentu dapat berinteraksi dengan target biologis tertentu dalam tubuh. Hal ini dapat membantu dalam mengidentifikasi kandidat obat atau memahami mekanisme aksi senyawa kimia tertentu (Daina et al., 2019).

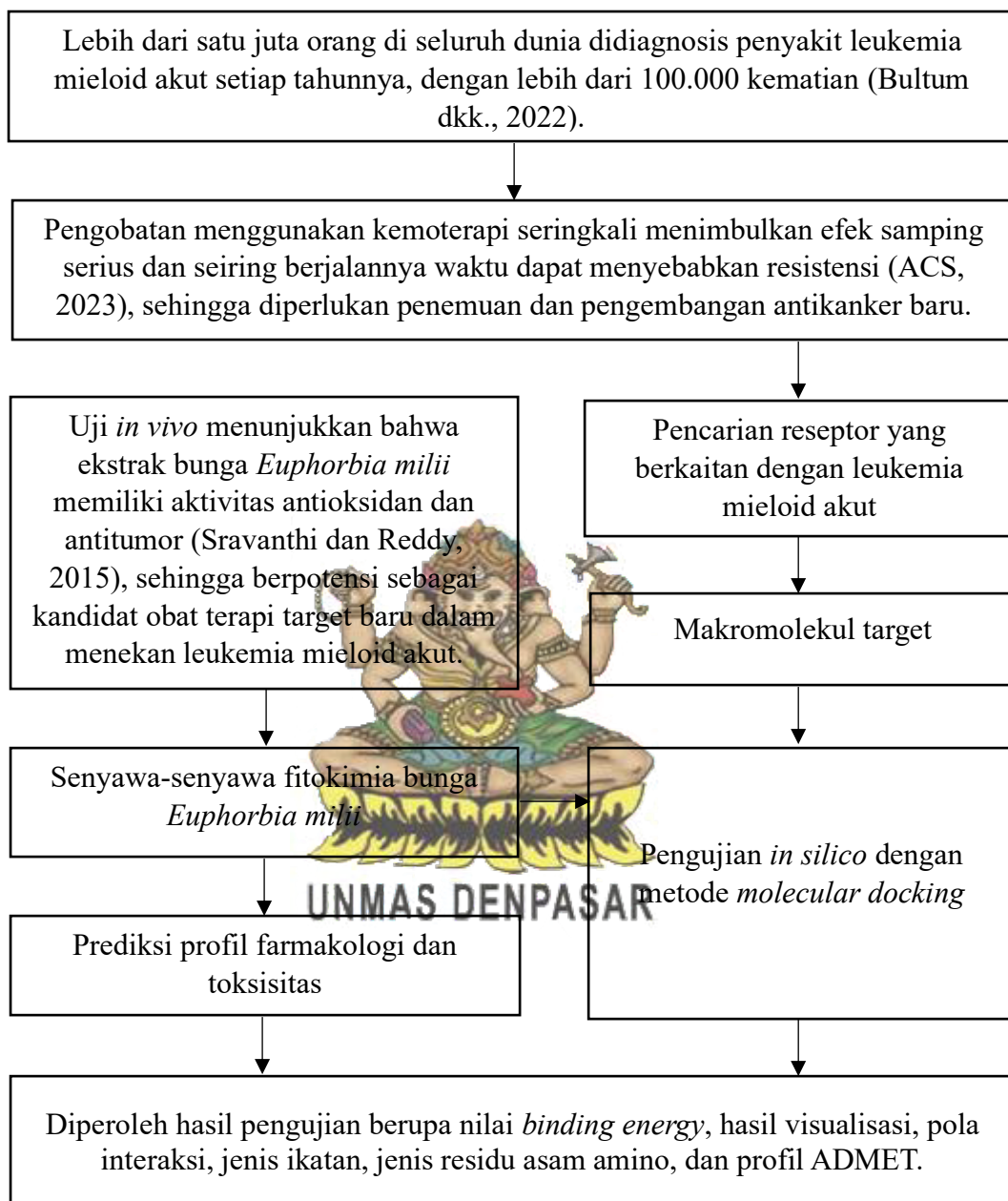
2.4.4. ADMETLab

ADMETlab adalah sebuah alat atau *platform* komputasi yang digunakan dalam penelitian obat untuk memprediksi berbagai parameter farmakokinetik dan toksikologi yang terkait dengan senyawa-senyawa kandidat obat. ADMETlab

membantu para peneliti dalam memahami bagaimana senyawa-senyawa tersebut akan berperilaku dalam tubuh manusia, termasuk dalam hal penyerapan, distribusi, metabolisme, eliminasi, serta potensi toksisitasnya. Dengan menggunakan ADMETlab, peneliti dapat mengevaluasi potensi kandidat obat sebelum melakukan uji klinis pada manusia, sehingga dapat menghemat waktu dan biaya dalam pengembangan obat serta mengurangi risiko efek samping yang tidak diinginkan (Dong et al., 2018).



2.5. Kerangka Konseptual



Gambar 2. 7 Kerangka konseptual