

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker merupakan istilah untuk penyakit yang terjadi akibat sel-sel abnormal membelah tanpa kendali dan dapat menyerang jaringan di sekitarnya (Zeliger, 2022). Kanker adalah penyebab paling umum kedua kematian manusia di seluruh dunia (She et al., 2020). Sel-sel normal pada tubuh manusia akan terus berkembang dan membelah membentuk sel-sel baru, disisi lain terdapat juga sel-sel yang mati secara teratur. Ketika sel-sel dalam tubuh mengalami pertumbuhan yang tidak terkendali, maka hal tersebutlah yang menunjukkan kanker dimulai (Kashyap et al., 2019). Salah satu kanker yang paling umum menyebabkan kematian khususnya pada wanita adalah kanker serviks. Kanker serviks merupakan tumor ganas pada wanita yang disebabkan oleh sekelompok virus DNA beruntai ganda yang disebut *Human papillomavirus* (HPV) (W. Wang et al., 2022). Sel normal tentunya tidak berubah menjadi sel kanker secara tiba-tiba. Sel-sel serviks normal pada awalnya menjadi prakanker dan kemudian berubah menjadi kanker. Kematian akibat kanker serviks di seluruh dunia terjadi di negara-negara dengan Indeks Pembangunan Manusia (IPM) rendah dan menengah (Kashyap et al., 2019; Zhang et al., 2020).

Kanker serviks menempati peringkat kesembilan di dunia sebagai penyebab utama kematian akibat kanker pada wanita berdasarkan data *International Agency for Research on Cancer* (IARC) pada tahun 2020 (WHO, 2020a). *Global Burden Cancer* (GLOBOCAN) menyebutkan bahwa pada tahun 2020, diperkirakan sekitar 604.000 orang wanita didiagnosis menderita kanker serviks di seluruh dunia dan dilaporkan sekitar 342.000 orang wanita meninggal karena penyakit tersebut (Sung et al., 2021). Tingkat prevalensi dan kematian berbeda menurut wilayah dengan tingkat tertinggi ditemukan di Amerika Latin, Asia Tenggara, dan Afrika (Pratiwi et al., 2022). Sementara itu, di Indonesia, kanker serviks berada di urutan kedua kanker terbanyak. *World Health Organization* (WHO) melaporkan bahwa terdapat

36.633 kasus baru pada tahun 2020. Pada tahun yang sama, angka kematian akibat kanker serviks mencapai 21.003 kematian (WHO, 2020b).

Meskipun pencegahan kanker serviks dapat dilakukan melalui vaksinasi terhadap jenis infeksi HPV, biaya vaksinasi yang cukup mahal merupakan penghalang utama (Korn et al., 2022). Selain itu, vaksin tersebut hanya efektif jika diberikan kepada individu yang tidak terinfeksi (Syafitri et al., 2021). Pengobatan kanker serviks dengan pembedahan, radiasi dan kemoterapi masih memiliki prognosis yang buruk dengan hasil klinis yang bervariasi secara signifikan dikarenakan kekambuhan tumor dan metastasis (She et al., 2020). Obat antikanker merupakan salah satu jenis obat yang paling beracun dengan indeks terapi yang sempit. Obat ini umumnya diresepkan dalam kombinasi dengan harapan mampu memaksimalkan kemanjuran terapi dan meminimalkan efek samping. Namun, semua hal tersebut juga mampu berkontribusi pada risiko tinggi interaksi obat-obat pada pasien kanker. Interaksi ini dapat mengakibatkan efek samping yang serius atau kegagalan terapi pasien kanker (J. Wang et al., 2021). Selain itu, penggunaan obat anti kanker tidak hanya secara khusus menargetkan sel kanker, namun juga dapat membunuh sel sehat dan dapat menyebabkan efek samping yang serius (Syafitri et al., 2021).

Studi terbaru menunjukkan bahwa stres oksidatif adalah salah satu penyebab penting yang bertanggung jawab untuk kanker karena dapat menyebabkan kerusakan DNA, perubahan gen penekan tumor, perkembangan keganasan dan resistensi terhadap pengobatan (Pouremamali et al., 2022). Pada kanker serviks, jaringan epitel serviks terpapar stres oksidatif yang mendorong perkembangan infeksi virus kronis yang persisten. Jaringan epitel serviks memiliki sistem antioksidan yang terdiri dari faktor transkripsi *nuclear factor erythroid-2-related factor 2* (NRF2). NRF2 menjaga keseimbangan redoks dalam sel dengan mengendalikan transkripsi gen (J. Q. Ma et al., 2015). Dalam kondisi normal, NRF2 dapat ditekan oleh protein KEAP1. KEAP1 (*Kelch-like ECH-associated protein 1*) merupakan protein penekan yang berikatan dengan NRF2 dan mendorong degradasinya melalui jalur proteasome ubiquitin. Adanya ekspresi berlebih NRF2 pada kanker serviks secara signifikan terkait dengan penurunan ekspresi KEAP1.

Oleh karena itu, jalur pensinyalan NRF2/KEAP1 mungkin merupakan strategi terapi yang menjanjikan pada kanker serviks (Pouremamali et al., 2022).

Senyawa yang saat ini banyak digunakan dalam pencegahan dan pengobatan penyakit manusia adalah antioksidan. Antioksidan memiliki kemampuan menetralkan molekul radikal bebas dengan menyumbangkan salah satu elektronnya sendiri sehingga mampu menghambat reaksi oksidatif dan mencegah kerusakan sel. Reaksi oksidatif merupakan reaksi yang dapat menyebabkan penyakit degeneratif seperti penyakit kanker (Adawiah et al., 2015). Beberapa penelitian menyebutkan bahwa terdapat hubungan antara antioksidan tanaman dengan pengurangan penyakit kronis sehingga antioksidan diduga mampu melindungi dari perkembangan kanker dan metastasis (Okereke & Elekwa, 2014). Antioksidan endogen yang lebih tinggi juga mampu melindungi terhadap stres oksidatif yang dialami pasien kanker (Singh et al., 2018).

Beberapa penelitian menyebutkan bahwa metabolit sekunder dari tumbuhan merupakan sumber antioksidan alami. Salah satu tumbuhan yang dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan yang cukup menjanjikan adalah tumbuhan magenta (*Peristrophe bivalvis*) (Quan et al., 2016). Tumbuhan magenta berasal dari keluarga *Acanthaceae* dengan genus *Peristrophe* yang merupakan pohon lunak kecil. Tumbuhan magenta biasa digunakan sebagai pewarna alami yang memiliki warna magenta hingga ungu-kemerahan (Thuy et al., 2012). Beberapa senyawa yang terkandung dalam daun tanaman magenta adalah minyak esensial, minyak lemak, saponin, saponin, tanin, flavonoid, antosianin, dan fenolik (Adrianta, 2020). Adapun komponen utama yang ditemukan dalam ekstrak daun magenta adalah pigmen pewarna yaitu peristrophine dan perisbivalvin (Thuy et al., 2012). Mai et al. (2020) melaporkan bahwa pigmen yang diekstraksi oleh air dari daun magenta memiliki aktivitas penangkap radikal bebas yang baik. Berdasarkan aktivitas antioksidan tersebut maka perlu dilakukan pengujian lebih lanjut terhadap ekstrak daun tumbuhan magenta sebagai agen antikanker.

Pengembangan obat antikanker saat ini memerlukan proses panjang sehingga memakan waktu lama serta biaya yang mahal dengan tingkat keberhasilan yang rendah. Namun seiring dengan kemajuan teknologi komputerisasi, desain obat

dengan bantuan komputer lebih populer untuk penelitian obat praklinis karena memiliki efisiensi tinggi dan biaya yang rendah (She et al., 2020). Desain dan pengembangan obat baru saat ini dapat dilakukan secara *in silico* menggunakan studi *biocomputing* untuk menganalisis interaksi berdasarkan struktur atau yang dikenal sebagai *molecular docking* (Tyagi et al., 2020). *Docking molecular* adalah teknik yang membahas pengikatan molekul kecil (ligan) berupa kandidat senyawa dengan makromolekul (reseptor) berupa protein target. Metode ini dilakukan menggunakan *software* yang menunjukkan afinitas ikatan antara reseptor dengan ligan (Rampogu et al., 2018).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perlu dilakukan penelitian yang bertujuan untuk mengetahui senyawa yang berperan sebagai antikanker pada daun magenta (*Peristrophe bivalvis*) serta mengidentifikasi protein target yang berperan pada *pathway* kanker serviks secara *in silico* yang dianalisis lebih lanjut untuk menentukan kekuatan ikatan menggunakan aplikasi *AutoDock Tools*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang permasalahan yang telah dipaparkan, dapat diambil suatu rumusan masalah yaitu:

1. Protein apa saja yang menjadi target molekuler dari senyawa peristrophine dan perisbivalvin sebagai antikanker serviks?
2. Apakah senyawa peristrophine dan perisbivalvin memiliki interaksi yang baik terhadap target molekuler kanker serviks?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari dilaksanakannya penelitian ini yaitu:

1. Untuk mengetahui protein yang menjadi target molekuler dari senyawa peristrophine dan perisbivalvin sebagai antikanker serviks.
2. Untuk mengetahui apakah senyawa peristrophine dan perisbivalvin memiliki interaksi yang baik terhadap target molekuler kanker serviks.

1.4 Manfaat penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

Secara teoritis penelitian ini bermanfaat dalam pengembangan teori tentang potensi senyawa peristrophine dan perisbivalvin pada penyakit kanker serviks melalui studi *in silico*.

1.4.2 Manfaat Praktis

Secara praktis penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi pada masyarakat mengenai pemanfaatan bahan alam sebagai calon obat baru pada terapi kanker serviks.



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kanker

Kanker terjadi ketika terdapat serangkaian mutasi gen yang berurutan hingga mengubah fungsi sel. Mutasi DNA yang terjadi pada sel-sel inilah yang menyebabkan sel menjadi abnormal dan berpotensi menjadi kanker. Senyawa kimia berperan jelas dalam pembentukan mutasi gen dan sel kanker. Beberapa senyawa kimia lingkungan yang memiliki sifat karsinogenik dapat mempengaruhi secara langsung atau tidak langsung sitoplasma dan inti sel, serta menyebabkan kelainan genetik dan mutasi gen (Hassanpour & Dehghani, 2017). Kelainan tersebut dapat disebabkan oleh karsinogen kimia, peradangan kronis, paparan radiasi, dan predisposisi genetik. Klasifikasi kanker didasarkan pada sistem stadium spesifik kanker. Selain itu, jenis dan derajat kanker juga merupakan parameter penting untuk keberhasilan pengobatan. Sistem stadium dibagi berdasarkan ada tidaknya metastasis, ukuran tumor, serta luasnya penyebaran kelenjar getah bening (Rossi et al., 2020).

2.2 Kanker Serviks

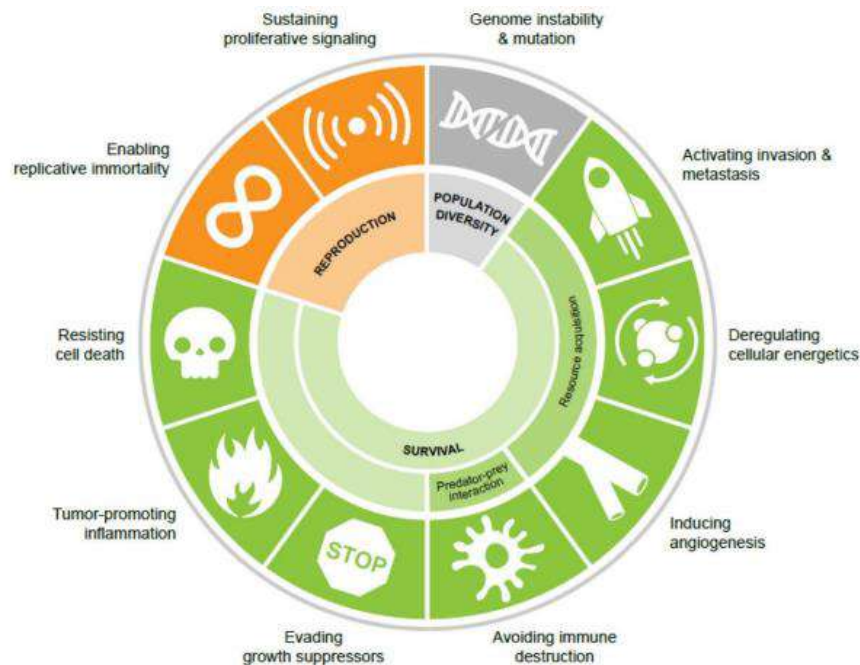
Serviks adalah ujung bawah rahim yang sempit. Kanker serviks merupakan tumor ganas pada wanita yang disebabkan oleh sekelompok virus yang disebut *Human papillomavirus* (HPV) (W. Wang et al., 2022). *Human papillomavirus* (HPV) termasuk ke dalam keluarga Papillomaviridae. Virus ini relatif kecil dan mengandung DNA untai ganda melingkar. HPV mereplikasi genom mereka dengan menggunakan gen *E1* dan *E2* (Evriarti & Yasmon, 2019). Pada proses mereplikasi DNA virus menggunakan sel inang dan mengekspresikan protein yang dikodekan oleh virus, sehingga partikel virus baru dirakit kemudian dilepaskan disaluran serviks. Deregulasi ekspresi gen inang menyebabkan pertumbuhan abnormal sel skuamosa pada permukaan serviks (Manini & Montomoli, 2018).

Beberapa jenis kanker memiliki stadium I – IV, tetapi ada beberapa jenis kanker yang memiliki stadium 0 hingga IV termasuk kanker serviks. Pada tahap 0 disebut sebagai *carcinoma in situ*, yaitu ketika ditemukan sel-sel abnormal di lapisan dalam serviks. Kemudian pada stadium I, penyebaran kanker terjadi pada serviks, namun kanker belum menyebar ke jaringan di sekitar vagina dan leher rahim. Ketika kanker telah menyebar di luar serviks namun masih belum menyebar ke dinding panggul atau sepertiga bagian bawah vagina disebut sebagai stadium II. Ketika kanker telah menyebar ke sepertiga bagian bawah vagina dan/atau mungkin telah menyebar ke dinding panggul, dan/atau telah menyebabkan cedera ginjal disebut sebagai stadium III. Selanjutnya kanker dikatakan memasuki stadium IV saat kanker telah menyebar ke kandung kemih, rektum, atau bagian tubuh lainnya (Johnson et al., 2019).

2.3 Karakteristik Sel Kanker

Kanker memiliki 10 karakteristik yang khas (*10 hallmarks of cancer*) seperti yang ditunjukkan oleh gambar 2.1, diantaranya (1) Ketidakstabilan dan mutasi genom (*Genomic instability and mutation*) merupakan ciri penting dalam perkembangan tumor ganas yang memungkinkan peningkatan mutase dan mendorong perkembangan tumor; (2) Mengaktifkan invasi dan metastasis (*Activating invasion and metastasis*); (3) Deregulasi energi seluler (*Deregulating cellular energetics*); (4) Menginduksi angiogenesis (*Inducing angiogenesis*); (5) Menghindari kerusakan kekebalan tubuh (*Avoiding immune destruction*); (6) Menghindari penekan pertumbuhan (*Evading growth suppressors*) yang berkelanjutan menjadi penyebab pertumbuhan sel kanker yang tidak terkendali; (7) Peradangan yang memicu tumor (*Tumor-promoting inflammation*) terjadi dalam beberapa cara, seperti sel-sel kekebalan yang mengeluarkan banyak molekul pensinyalan, enzim, dan *reactive oxygen species* (ROS) ke dalam lingkungan mikro tumor; (8) Menolak kematian sel (*Resisting cell death*); (9) Mengaktifkan keabadian replikatif (*Enabling replicative immortality*) disebabkan oleh peningkatan regulasi telomerase, enzim pemanjang telomer; (10) Mempertahankan pensinyalan proliferasi (*Sustaining proliferative signaling*) yang berkelanjutan

memperbesar efek ketidakstabilan genom karena ada lebih banyak sel yang tersedia untuk seleksi evolusi (Broertjes, 2015).



Sumber : (Broertjes, 2015)

Gambar 2.1 Sepuluh Karakteristik Kanker (10 hallmarks of cancer)

2.4 Obat Kanker Konvensional

Terapi kanker serviks ditentukan berdasarkan beberapa faktor, yaitu stadium kanker, penyebaran kanker menuju bagian organ lain, usia pasien, dan ukuran tumor serta kesehatan secara keseluruhan (Johnson et al., 2019). Pada pengobatan kanker, seringkali ada lebih dari satu pilihan pengobatan. Beberapa pengobatan untuk kanker serviks meliputi pembedahan, radiasi, dan kemoterapi sendiri atau dalam kombinasi. Pembedahan merupakan pengobatan utama pada kanker serviks stadium awal yang dilakukan dengan menghapus sebagian dari serviks. Pada terapi radiasi terdapat dua jenis utama terapi yang digunakan dalam mengobati kanker serviks yaitu *external beam radiation* (EBRT) dan *internal radiation therapy* (*brachytherapy*). Tujuan terapi radiasi adalah membunuh sel kanker dengan menggunakan gelombang energi tinggi yang mirip dengan x – rays. Terapi radiasi

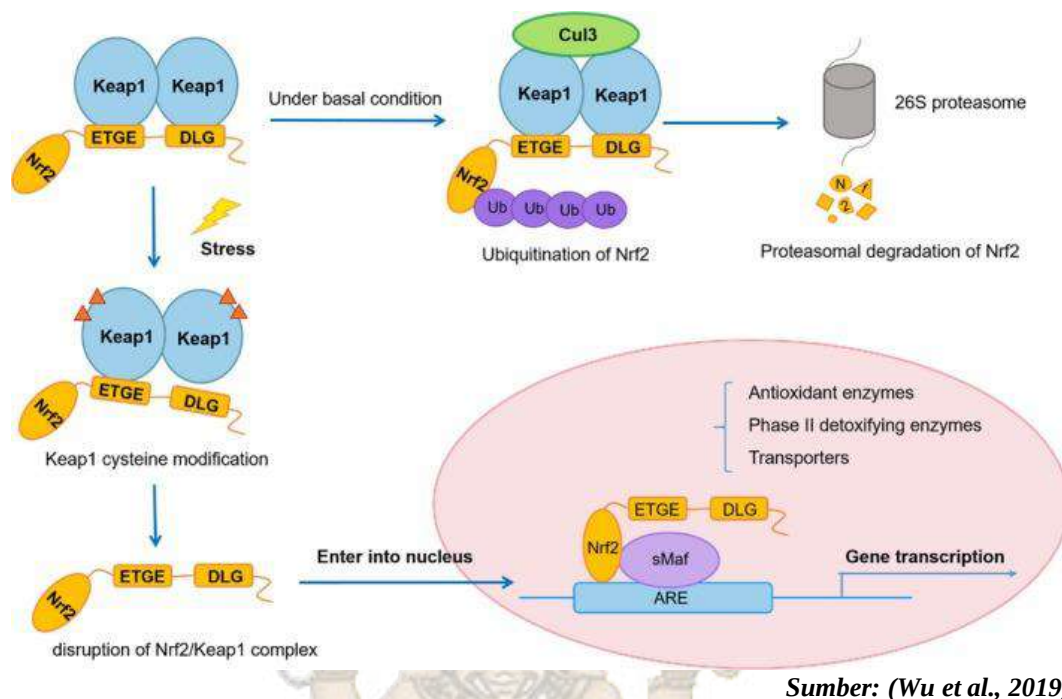
ini memiliki efek samping jangka panjang yang berpotensi serius pada kesuburan, kesehatan seksual, fungsi usus dan kandung kemih. Selanjutnya terdapat kemoterapi yang merupakan terapi sistemik yang paling umum digunakan untuk kanker serviks. Kemoterapi bekerja dengan membunuh sel atau dengan menghentikan membelah sel. Kekurangan dari kemoterapi ini adalah mampu membunuh sel sehat selain sel kanker sehingga dapat menyebabkan efek samping yang serius (NCCN, 2022).

2.5 Target Molekuler Kanker Serviks

Obat yang ditargetkan dapat diklasifikasikan menjadi dua kategori, yaitu molekul kecil dan makromolekul (misalnya, antibodi monoklonal, polipeptida, konjugat antibodi-obat, dan asam nukleat). Dibandingkan dengan obat makromolekul, obat target molekul kecil memiliki keunggulan dalam beberapa aspek seperti sifat farmakokinetik, biaya, kepatuhan pasien, serta penyimpanan dan transportasi obat (Zhong et al., 2021).

2.5.1 NRF2/KEAP1

Jalur KEAP1-NRF2 adalah salah satu pensinyalan utama yang mempromosikan pertahanan antioksidan dalam sel normal yang merupakan mekanisme penting dalam pencegahan perkembangan kanker. Di bawah kondisi fisiologis, NRF2 terlibat dalam penyeimbangan redoks intraseluler, respons xenobiotik, metabolisme, dan kelangsungan hidup sel. Sel-sel hidup membutuhkan homeostasis seluler untuk proses metabolisme dan kemampuan untuk merespons dengan cepat berbagai tekanan yang ditimbulkan oleh paparan racun. Kerusakan sel yang dimediasi ROS menimbulkan stres oksidatif yang tampaknya merugikan kelangsungan hidup sel dan selanjutnya berkontribusi pada induksi tumorigenesis. Respon antioksidan yang dimediasi NRF2 adalah salah satu mekanisme pertahanan seluler utama yang melindungi dari stres oksidatif (Wu et al., 2019). *Kelch-like ECH-associated protein 1* (KEAP1) adalah sensor stres oksidatif yang berfungsi sebagai adaptor untuk ligase *ubiquitin Cullin-3* (CUL3) serta mengatur aktivitas faktor nuklir terkait NRF2 (Wilson et al., 2021).



Gambar 2.2 Jalur pensinyalan NRF2/KEAP1

Dalam kondisi basal, NRF2 mengikat KEAP1 dengan dua motifnya (ETGE dan DLG) dan mengaktifkan ubiquitination yang dimediasi Cul3 diikuti oleh degradasi proteasomal. Pada pemaparan sel terhadap stres oksidatif atau senyawa kemopreventif, residu sistein KEAP1 dimodifikasi dan konformasi berubah, menghasilkan pelepasan motif NRF2 DLG dari KEAP1, mengganggu ubiquitination dan degradasi NRF2. Afinitas pengikatan antara NRF2 dan KEAP1 berkurang dan sistem ubiquitinasi NRF2-Cul3 terganggu. Hal ini memungkinkan NRF2 untuk mentranslokasi ke nukleus, membentuk heterodimer dengan salah satu sMafs, dan berikatan dengan elemen antioksidan (ARE) di wilayah promotor hulu dari banyak gen. Pada pemulihan keseimbangan redoks, NRF2 dipisahkan dari urutan ARE. KEAP1 masuk ke dalam nukleus dan mengawal NRF2 keluar dari nukleus ke mesin ligase Cul3-E3 ubiquitin sitoplasma untuk degradasi. Pada akhirnya, tingkat NRF2 yang rendah tercapai kembali dan jalur pensinyalan NRF2/KEAP1 dimatikan (Wu et al., 2019).

Pada kanker serviks, jaringan epitel serviks terpapar stres oksidatif yang mendorong perkembangan infeksi virus kronis yang persisten. Jaringan epitel

serviks memiliki sistem antioksidan yang terdiri dari faktor transkripsi *nuclear factor erythroid-2-related factor 2* (NRF2) (J. Q. Ma et al., 2015). Wahidji et al. (2020) melaporkan bahwa semakin tinggi stadium kanker serviks maka semakin rendah kadar antioksidan totalnya. Hal ini dikarenakan kemoterapi pada pasien kanker serviks menyebabkan terjadinya pembentukan radikal bebas. Radikal bebas ini akan menginduksi peroksidasi lipid yang merupakan salah satu jenis ROS dan kemudian akan merusak membran sel. Oleh karena itu, semakin meningkatnya peroksidasi lipid selama kemoterapi menyebabkan semakin banyak antioksidan yang terpakai.

2.6 Daun Magenta

2.6.1 Klasifikasi

Divisio : Magnoliophyta
 Kelas : Magnoliopsida
 Ordo : Lamiales
 Familia : Acanthaceae
 Genus : *Peristrophe*
 Spesies : *Peristrophe bivalvis*

2.6.2 Morfologi

Peristrophe bivalvis merupakan tanaman herba tahunan yang tersebar luas di daerah beriklim sejuk dan lembab. Ini memiliki banyak warna seperti ungu, ungu-magenta, merah dan kuning. *Peristrophe bivalvis* memiliki tinggi sampai 2 m, hidup bergerombol, batang hijau berbuku-buku, kulit batang kasar. Panjang daun mencapai 10 cm dengan lebar daun sampai 6 cm, daun berbentuk bulat telur, ujung daun runcing, permukaan daun seperti berbulu, warna daun hijau muda, tulang daun sekunder, pangkal daun bulat (Minh, 2021).

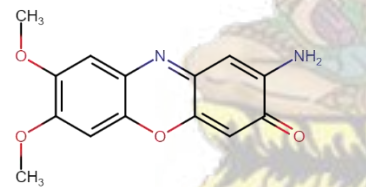
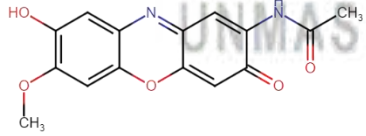
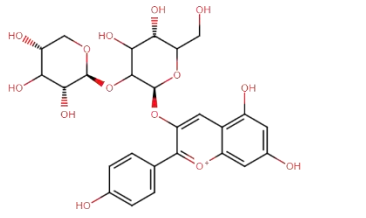
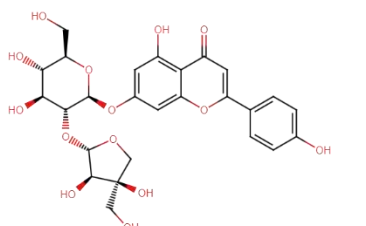


Sumber: (Minh, 2021)

Gambar 2.3 Tanaman Magenta (*Peristrophe bivalvis*)

2.6.3 Senyawa kimia daun magenta

Tabel 2.1 Senyawa Kimia pada Daun Magenta

No	Struktur	Nama	Ref
1		Peristrophine	(Thuy et al., 2012)
2		Perisbivalvin	(Thuy et al., 2012)
3		Pelargonidine 3-Sambubioside	(Adrianta et al., 2022)
4		Apioside	(Adrianta et al., 2022)

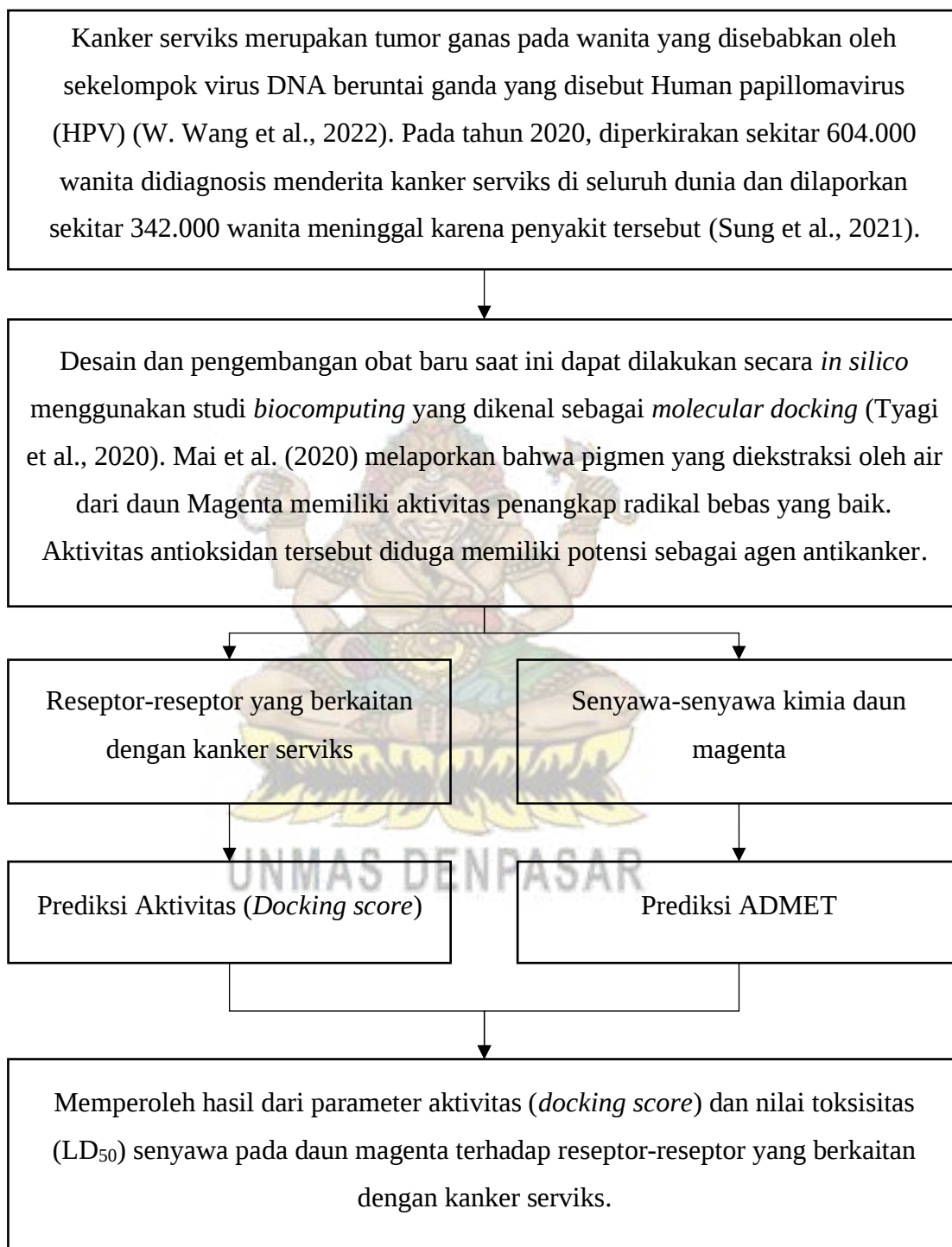
2.7 Penggunaan Komputer di Bidang Penemuan Obat

Desain obat dengan bantuan komputer memanfaatkan pengetahuan struktural baik ligan target (berbasis struktur) atau ligan yang diketahui dengan bioaktivitas (berbasis ligan) untuk memfasilitasi penentuan kandidat obat yang menjanjikan. Teknik ini sekarang banyak digunakan oleh perusahaan farmasi dan kelompok penelitian yang bertujuan mengurangi biaya dan waktu yang diperlukan untuk penemuan obat yang manjur. Penggunaan teknik *computer-aided drug discovery* (CADD) oleh perusahaan farmasi kelompok penelitian menjadi tahap awal penemuan obat untuk mempercepat proses pengembangan obat dengan cara yang lebih hemat biaya dan untuk meminimalkan kegagalan dalam tahap akhir (Macalino et al., 2015).

Selama beberapa tahun terakhir, mendesain obat dengan bantuan komputer telah membuka kemungkinan baru untuk meningkatkan akurasi dan efisiensi penemuan obat *in silico*. Hal ini memperkenalkan keseluruhan prosedur dan metodologi dibalik penemuan obat *in silico*. Metode tersebut meliputi identifikasi protein target, penyaringan perpustakaan kimia dengan *database* yang tersedia penilaian toksisitas menggunakan bantuan komputer, merangkum alat prediksi, serta daftar senyawa obat yang disetujui dan dilaporkan oleh *Federal Drug Administration* (FDA) untuk dikembangkan menggunakan teknik CADD (Shaker et al., 2021).

Docking molekuler merupakan teknik yang bertujuan untuk memprediksi mode pengikatan yang paling cocok dari ligan ke mitra makromolekul. Ini terdiri dari generasi sejumlah kemungkinan konformasi/orientasi, yaitu pose, ligan di dalam situs pengikatan protein. *Docking molekuler* terdiri dari dua tahap yaitu mesin untuk pengambilan sampel konformasi/orientasi dan fungsi penilaian yang mengaitkan skor dengan setiap pose yang diprediksi (Salmaso & Moro, 2018).

2.8 Kerangka Konseptual



2.9 Hipotesis

Adapun hipotesis dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Target molekuler kanker yang bertanggung jawab terhadap aktivitas antikanker senyawa-senyawa yang terdapat pada daun magenta dapat diprediksi dengan metode bioinformatika dan *docking* molekuler.
2. Senyawa-senyawa tertentu yang terdapat pada daun magenta diprediksi memiliki aktivitas dan interaksi yang baik dengan target molekuler kanker.

