

## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kanker merupakan penyakit yang paling dominan di seluruh dunia. Tercatat 9,6 juta kasus kematian pada tahun 2020 dengan kanker payudara yang banyak terjadi pada wanita dan paling mematikan yang memiliki persentase kematian 15,5 % (Goda *et al.*, 2022). Pencarian senyawa obat kanker baru terus dilakukan dan memerlukan berbagai senyawa-senyawa aktif untuk pengembangan obat terapi target. Sumber daya alam laut, telah menjadi sumber senyawa obat kanker yang menarik untuk dieksplorasi mekanisme kerjanya. Salah satu sumber daya alam laut penyumbang senyawa antikanker adalah spons seperti *Aaptos aaptos* yang mengandung senyawa aaptamine (Pham *et al.*, 2013) dan *Trididemnum solidum* mengandung didemnin B yang berpotensi sebagai antikanker (Kiuru *et al.*, 2014). Penelitian lainnya yang telah mengkaji ekstrak dan fraksi spons laut *Aaptos suberitoides* dan *Stylissa carteri* menunjukkan potensi sebagai antikanker pada beragam sel kanker payudara dan kolon (Bashari *et al.*, 2019; Daffa *et al.*, 2021; Hardani *et al.*, 2018).

Namun demikian, eksploitasi berlebih terhadap spons laut dapat mengganggu keseimbangan ekosistem laut. Maka alternatif yang dapat dipertimbangkan adalah mikroorganisme simbiosis spons laut. Mikroorganisme simbiosis spons laut berasosiasi secara mutualisme dengan memproduksi senyawa yang membantu inangnya melawan organisme patogen (Farooq *et al.*, 2020). Sebagai contoh, jamur *Setosphaeria* sp. simbiosis spons laut *Callyspongia* sp. yang mengandung senyawa 7-O-demethylmonocerin dan memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai  $IC_{50}$  11,2  $\mu\text{g/mL}$  yang mampu menangkal radikal bebas. Jamur *Aspergillus europaeus* simbiosis spons laut *Xestospongia testudinaria*, menghasilkan enam turunan poliketida yang berbeda, dengan tiga benzofenon yang memiliki aktivitas antioksidan paling kuat ( $IC_{50}$  = 1,7–5,4  $\mu\text{g/mL}$ ). Ekstrak miselium dan supernatan kultur *Aspergillus unguis* simbiosis spons *Agelas* sp. menunjukkan aktivitas yang signifikan terhadap anion superoksida. *Aspergillus terreus* simbiosis spons laut *Phakellia fusca*, diidentifikasi menghasilkan empat turunan butenolida dengan sifat antioksidan sedang ( $IC_{50}$  = ~14–36  $\mu\text{g/mL}$  dan berpotensi sebagai antikanker (Esposito *et al.*, 2021).

Berbagai cara dilakukan untuk mendapatkan senyawa yang berpotensi sebagai antikanker agar dapat digunakan dalam pengembangan obat untuk terapi target. Strategi pengobatan terapi target menggunakan senyawa kecil atau biomolekul yang dapat menghambat pertumbuhan dan penyebaran kanker dengan cara mengganggu protein tertentu yang terlibat dalam pertumbuhan dan perkembangan sel kanker (Masoud and Pagès, 2017). Salah satu metode pencarian senyawa untuk terapi target adalah dengan *untargeted metabolomic* melalui *virtual screening* yang dikombinasikan dengan *molecular docking* dan *molecular dynamics*. Metode metabolomik non-target merupakan salah satu metode yang efektif dalam mengidentifikasi kandungan metabolit di dalam sampel biologis kompleks menggunakan alat *Mass Spectrometry* (MS) dan tandem MS, yang dikombinasikan dengan *Liquid Chromatography* (LC) atau *Gas Spectrometry* (GC) (S. Zhang *et al.*, 2022).

Berbagai protein yang berperan penting dalam pertumbuhan sel, proliferasi, perbaikan Deoxyribonucleic Acid (DNA), dan apoptosis seperti *Poly ADP Ribose Polymerase* (PARP), *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR), *Cyclin Dependent Kinase* (CDK4/6), *Murine Double Minute-2* (MDM2), *Human Epidermal Growth Factor Receptor-2* (HER2), dan *AK-strain Transforming* (AKT). Fungsi utama PARP adalah melakukan perbaikan DNA sehingga mutasi PARP menyebabkan terjadinya perbaikan pada sel kanker secara terus-menerus (Cortesi *et al.*, 2021; Sachdev *et al.*, 2019). EGFR berperan dalam diferensiasi dan proliferasi sel. Mutasi yang terjadi pada EGFR akan mengakibatkan pertumbuhan sel yang tidak terkontrol (Maennling *et al.*, 2019; Uribe *et al.*, 2021). CDK 4/6 merupakan pengatur utama transisi dari fase G1 siklus sel dan memulai perkembangan siklus sel. Aktivasi berlebihan CDK dapat menginduksi inti sel kanker sehingga terus berproliferasi (Ghafouri-Fard *et al.*, 2022; Spring *et al.*, 2019).

MDM2 merupakan onkoprotein yang berperan sebagai E3 ubiquitin ligase, dikenal karena kemampuannya mengikat dan menurunkan aktivitas p53, sebuah tumor supresor penting dalam pengaturan siklus sel dan apoptosis (Yang, 2006). HER2 adalah protein reseptor yang terletak di permukaan sel dan berperan dalam mengatur pertumbuhan serta pembelahan sel. Overekspresi HER2 ditemukan pada sekitar 15-30% kasus dan dikaitkan dengan peningkatan agresivitas tumor serta

prognosis yang lebih buruk. Salah satu mutasi spesifik pada HER2 adalah mutasi tirosin, valin, metionin, alanin (YVMA), yang merupakan insersi 12 pasangan basa pada ekson 20 dari gen HER2 (Majumder, A., *et al.*, 2021). AKT juga dikenal sebagai protein kinase B (PKB) yaitu serin/treonin kinase yang memainkan peran penting dalam berbagai proses seluler, termasuk pertumbuhan sel, proliferasi, metabolisme, dan kelangsungan hidup. mutasi atau aktivasi berlebihan dari komponen jalur *Phosphatidylinositol-3 Kinase/AK-strain Transforming* PI3K/AKT, seperti mutasi pada gen *Phosphatidylinositol-3 Kinase Catalytic Subunit Alpha* (PIK3CA) atau hilangnya fungsi *Phosphatase and Tensin Homolog Deleted on Chromosome 10* (PTEN), dapat menyebabkan proliferasi sel yang tidak terkendali dan resistensi terhadap apoptosis, berkontribusi pada perkembangan dan progresi kanker. Sekitar 30-40% kanker payudara ditemukan memiliki mutasi pada gen PIK3CA, yang mengarah pada aktivasi konstitutif jalur *Phosphatidylinositol-3 Kinase/AK-strain Transforming/mammalian Target of Rapamycin* (PI3K/AKT/mTOR) (Bailey *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2021).

Mutasi-mutasi yang terjadi pada protein-protein tersebut dapat menguntungkan sel kanker sehingga perlu dilakukan pendekatan secara molekuler untuk mengetahui mekanisme dan interaksi konstituen kimia aktif yang berpotensi sebagai inhibitor maupun aktivator pada berbagai protein target. Namun, belum ada pengkajian yang dilakukan terhadap interaksi dan mekanisme senyawa metabolit sekunder fraksi aktif ekstrak etanol jamur *A. unguis* simbion spons laut *A. suberitoides* terhadap protein-protein tersebut baik secara *in vitro* maupun secara *in silico*.

Oleh karena itu, penelitian ini pertama kali dilaporkan untuk uji *in vitro* terhadap setiap fraksi dari ekstrak etanol jamur *A. unguis* simbion spons laut *Aaptos suberitoides* terhadap sel kanker T47D, profil metabolik melalui *untargeted metabolomic*, uji *in silico* interaksi senyawa-senyawa melalui simulasi molekuler dengan mentarget protein yang berperan dalam proses pertumbuhan sel, proliferasi, perbaikan DNA, dan apoptosis yaitu: PARP, EGFR, CDK4, CDK6, MDM2, HER2 dan AKT serta nilai ADME, dan bioavailabilitas untuk melengkapi potensi senyawa aktif sebagai kandidat obat antikanker sehingga dapat dikembangkan lebih lanjut.

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana aktivitas antikanker setiap fraksi dari ekstrak etanol jamur *A. unguis* simbion spons laut *A. suberitoides* terhadap sel kanker payudara T47D?
2. Apa saja golongan metabolit beserta struktur senyawa yang terdapat di dalam fraksi-fraksi *A. unguis*?
3. Bagaimana mekanisme interaksi ligan terbaik dari fraksi aktif *A. unguis* dengan protein target PARP, EGFR, CDK4, CDK6, MDM2, HER2, dan/atau AKT?

## 1.3 Tujuan Penelitian

1. Menentukan aktivitas antikanker setiap fraksi dari ekstrak etanol jamur *A. unguis* simbion spons laut *A. suberitoides* terhadap sel kanker payudara T47D.
2. Menentukan golongan senyawa dan struktur metabolit di dalam fraksi-fraksi *A. unguis* yang berpotensi sebagai senyawa obat baru kanker payudara.
3. Menentukan mekanisme interaksi ligan terbaik dari fraksi aktif *A. unguis* dengan protein target PARP, EGFR, CDK4, CDK6, MDM2, HER2, dan/atau AKT.

## 1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan berperan dalam memberikan pengetahuan terkait potensi senyawa sebagai antikanker dari fraksi aktif ekstrak etanol jamur *A. unguis* simbion spons laut *A. suberitoides* dan mekanisme interaksinya terhadap protein target terkait karsinogenesis sehingga dapat berkontribusi, menghemat biaya dan waktu dalam penemuan serta pengembangan desain obat baru berbasis struktur untuk penyakit kanker payudara pada masa mendatang.