

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Kanker**

Pada hakikatnya, kanker adalah sel dengan proliferasi yang tak terkendali akibat kerusakan gen. Kanker berasal dari sel tunggal yang bermutasi dan tidak mengalami perbaikan lalu berkembang melalui proliferasi klon sel tersebut. Selanjutnya, perubahan genetik dari sel abnormal ini dapat menimbulkan koloni menjadi malignan atau ganas (Da'i & Sutrisna, 2021). Maka dari itu, kanker perlu segera mendapat penanganan, sebelum sel kanker ini menyebar ke seluruh tubuh dan menyebabkan komplikasi.

Pengobatan kanker dapat dilakukan dengan berbagai metode. Metode dipilih bergantung pada sifat kanker yang ditangani dan kecepatan perkembangan sel tersebut. Metode pengobatan kanker adalah dengan pembedahan, radioterapi, kemoterapi, endokrinterapi, dan imunoterapi. Pengobatan dengan menggunakan suatu molekul atau senyawa kimia yang dapat membahayakan sel kanker (antikanker) yang disebut juga prosedur kemoterapi. Obat antikanker juga dapat dikatakan sebagai obat sitotoksik, sitostatik atau antineoplasma. (Hardjono dkk., 2016). Pada umumnya, pengobatan kemoterapi ditujukan untuk memicu terjadinya proses kematian sel kanker tetapi proses ini juga dapat berdampak pada sel normal sehingga menimbulkan efek samping yang cukup besar. Dampak obat yang merugikan ini dapat dicegah dengan mengembangkan senyawa antikanker dengan target spesifik yang memiliki tingkat ketoksikan rendah (Da'i & Sutrisna, 2021).

Antikanker bekerja dengan memengaruhi proses kehidupan sel. Proses kehidupan sel meliputi suatu siklus yang melibatkan replikasi DNA, sintesis RNA, dan protein. Peran penting DNA bagi identitas dan fungsi sel, menimbulkan banyak mekanisme pengendali integritas sel yang mengalami evolusi. Salah satu contohnya adalah jika gen p53 mengalami mutasi maka sel-sel kanker dapat melalui siklus mitosis dan mempertahankan kerusakan DNA. Maka dari itu, saat ini banyak obat sitotoksik yang paling efektif bekerja dengan cara merusak DNA. (Hardjono dkk., 2016).

Salah satu ciri khas sel kanker adalah stres replikasi DNA dan dapat digunakan sebagai strategi terapi antikanker utama. Strategi ini melibatkan penginduksian kerusakan DNA lebih lanjut pada sel kanker, yang menyebabkan kerusakan parah dan kematian sel. Stres replikasi DNA diartikan sebagai segala hambatan atau gangguan selama proses replikasi normal dari DNA. Hal ini menyebabkan ketidakstabilan genom dan berpotensi berkontribusi terhadap perkembangan kanker (Gu dkk., 2023).

Ketidakstabilan genom (*Genome Instability*) adalah peningkatan kecenderungan sel atau organisme untuk mengalami perubahan genetik, seperti mutasi (Briuh dkk., 2021). Ketidakstabilan genom karena stres replikasi dapat timbul dari berbagai sumber, seperti kerusakan DNA, konflik antara replikasi dan transkripsi/ *transcription-replication conflicts* (TRC), dll. Konflik transkripsi-replikasi (TRC) terjadi ketika mesin transkripsi dan replikasi DNA bertabrakan pada *template* DNA yang sama, sehingga berpotensi menyebabkan gangguan pada kedua proses tersebut (Goehring dkk., 2023). Tingginya insiden konflik replikasi transkripsi (TRC) menjadi kontributor utama ketidakstabilan genom dalam sel kanker. Oleh sebab itu, TRC memberikan potensi sebagai target untuk pengembangan kemoterapi, tetapi belum dimanfaatkan. (Gu et al., 2023). Resolusi TRC menjadi potensial target karena resolusi yang berhasil dihambat dapat menyebabkan kerusakan DNA, seperti putusannya untai ganda (DSB), dan terhentinya atau runtuhnya *replication fork* (struktur replikasi DNA) (Goehring dkk., 2023).

Putusnya untai ganda/ *Double Strand Breaks* (DSB) adalah jenis kerusakan DNA paling parah, di mana kedua untai heliks ganda DNA putus. DSB dapat terjadi secara alami selama proses seperti replikasi DNA, atau dapat disebabkan oleh faktor eksternal seperti radiasi atau bahan kimia tertentu. (Saxena & Zou, 2022). Sel menggunakan beragam jalur respons perbaikan kerusakan DNA/ *DNA Damage Repair* (DDR) sebagai usaha untuk menjaga integritas genom. Pemahaman interaksi antara replikasi DNA dan DDR, khususnya yang melibatkan faktor replikasi utama seperti PCNA, memberikan peluang untuk mengembangkan pengobatan kanker yang optimal (Song dkk., 2023).

## 2.2 *Proliferation Cell Nuclear Antigen*

Dalam siklus sel, terdapat proses seluler yang sangat penting untuk duplikasi materi genom yang dibutuhkan, yaitu Replikasi DNA. Selain itu, dalam proses ini juga mungkin terjadi perbaikan DNA, yang menjaga integritas genom dengan memperbaiki DNA yang rusak secara akurat dan efisien. *Proliferation Cell Nuclear Antigen* (PCNA) memainkan peran dalam replikasi DNA dan bagian dari jalur perbaikan DNA (*translational synthesis, homologous recombination, mismatch repair, base, and nucleotide excision repair*) (Slade, 2018).

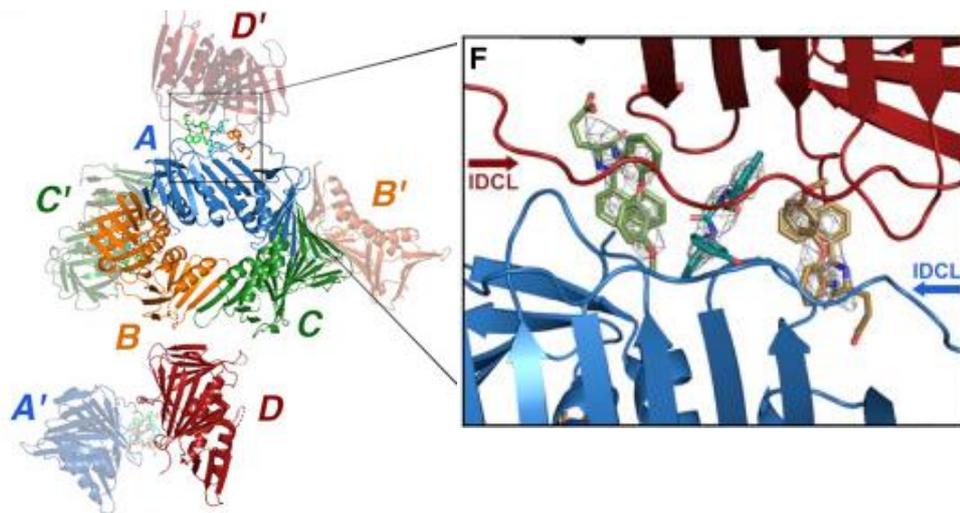
PCNA (*Proliferating Cell Nuclear Antigen*) telah muncul sebagai target terapi kanker yang menjanjikan karena perannya yang penting dalam replikasi DNA dan proses perbaikan kerusakan DNA. PCNA sering kali diekspresikan secara berlebihan pada berbagai jenis kanker, menjadikannya penanda diagnostik dan prognostik yang potensial. PCNA terlibat dalam jalur perbaikan kerusakan DNA, dan menargetkan PCNA dapat mengganggu jalur ini pada sel kanker. Gangguan ini dapat menyebabkan peningkatan akumulasi kerusakan DNA dan kematian sel pada sel kanker (apoptosis). Kesimpulannya, menargetkan PCNA dalam terapi kanker memiliki potensi besar terapi baru, yakni dengan mengembangkan *inhibitor* atau strategi spesifik yang mengganggu fungsi PCNA (Song dkk., 2023).

PCNA adalah suatu protein multifaset (bersegi banyak) yang ditemukan di semua sel eukariotik, dan memainkan peran penting dalam sintesis DNA dan perbaikan DNA. Protein ini membentuk struktur cincin homo-trimerik yang mengelilingi DNA dan bertindak sebagai pusat replisome, untuk menyediakan tempat berlabuhnya banyak protein yang terlibat dalam replikasi dan jalur perbaikan. Secara historis, PCNA telah banyak digunakan sebagai penanda perkembangan tumor. Reseptor PCNA dapat mewakili target antikanker utama, mengingat perannya dalam replikasi/ perbaikan DNA (Gu dkk., 2023).

Isoform PCNA terkait kanker (caPCNA) diekspresikan luas pada berbagai sel kanker dan jaringan tumor. Sebaliknya, Isoform PCNA tidak diekspresikan secara signifikan pada non-sel ganas. Bagian protein ini yang dimodifikasi dengan membedakan caPCNA dari PCNA normal yang dinyatakan dalam sel non-ganas. Perbedaan tersebut terletak di antara L126 dan Y133 di dalam daerah IDCL PCNA

dikenal juga sebagai domain utama situs pengikatan untuk banyak protein PCNA yang berinteraksi. Sel peptida permeabel yang mengandung urutan L126-Y133 dapat memblokir interaksi PCNA, mengganggu replikasi DNA, dan perbaikan DNA kombinasi homolog, serta menginduksi apoptosis pada sel kanker (Gu dkk., 2016).

Protein PCNA terdiri dari empat monomer (rantai A–D) dalam unit kristal asimetris. Rantai A, B, dan C membentuk unit biologis planar homotrimer, sedangkan rantai D berorientasi tegak lurus, dan di bawah bidang cincin antara rantai B dan C. Rantai D termasuk dalam struktur cincin PCNA yang berdekatan. Tiga molekul AOH1996 (Senyawa Ligan), dengan atom karbon berwarna hijau, biru (senyawa pusat) dan oranye, ditampilkan dengan representasi gambar batang. Dua senyawa, berwarna hijau dan biru, berikatan ke dalam rongga kotak PIP (PCNA *Interacting Protein*) di lokasi interaksi PCNA/ bagian interaksi senyawa.



Gambar 2.1 Interaksi antara reseptor PCNA dan ligan AOH1996 (Gu dkk., 2023)

IDCL: *Inter-domain Connector Loop*

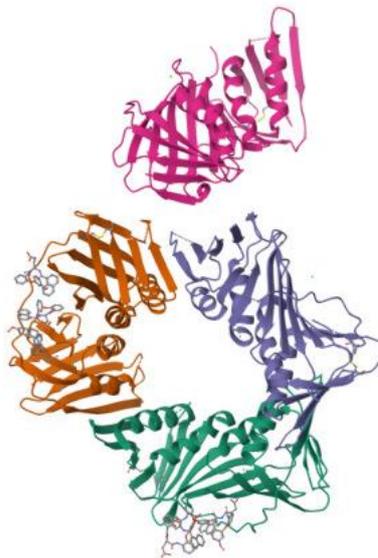
Senyawa AOH1996 berikatan dalam arah berlawanan pada subunit rantai C dan D (rongga kotak PIP). Hal ini disebabkan oleh simetri di dalam kristal. karena rantai C bertumpuk melawan rantai B', yang merupakan pasangan simetri dari rantai B pada cincin, sedangkan subunit D bertumpuk pada rantai A'.

Suatu hasil penelitian berhasil menunjukkan AOH1996 menghambat pertumbuhan tumor. Dalam usaha mencari peluang terapeutik baru, saat ini

semakin banyak pengembangan obat kanker yang menargetkan jalur non-onkogenik, dan telah menghasilkan sejumlah terapi yang berhasil. Berbeda dengan onkogen, PCNA merupakan salah satu protein non-okogen, yakni dengan kelebihan tidak mengalami mutasi onkogenik atau perubahan genomik yang signifikan secara fungsional pada tumor. Oleh karena itu, PCNA yang tidak rentan terhadap berkembangnya resistensi antikanker (Gu dkk., 2023). PCNA menjadi target potensial untuk terapi antikanker. Bila dibandingkan dengan sel-sel non-ganas, akumulasi bukti menunjukkan bahwa PCNA diekspresikan secara berlebihan atau dimodifikasi pasca-translasi dalam sel-sel ganas. Selain itu, kemoterapi dengan agen genotoksik yang menginduksi kerusakan DNA bisa lebih efektif bila dikombinasikan dengan penghambatan PCNA (Chang dkk., 2021).

### 2.3 PDB PCNA

Berdasarkan *Protein Data Bank Proliferating Cell Nuclear Antigen* yang berisi informasi terkait struktur tiga dimensi dari molekul biologis berukuran besar. didapatkan data terkait protein ini sebagai berikut (Gu dkk., 2023).



Gambar 2.2 *Co-crystal structure of caPCNA bound to the AOH1996*

(sumber: <https://doi.org/10.2210/pdb8GLA/pdb>)

PDB ID: 8GLA

Klasifikasi: Protein yang mengikat DNA.

Sumber Organisme: Manusia

Sistem Ekspresi: *Escherichia coli*

Mutasi: Tidak ada

Metode Eksperimen Data: *X-ray Dffraction*

Resolusi: 3,77 Å

*R-Value Free*: 0,260

*R-Value Work*: 0,205

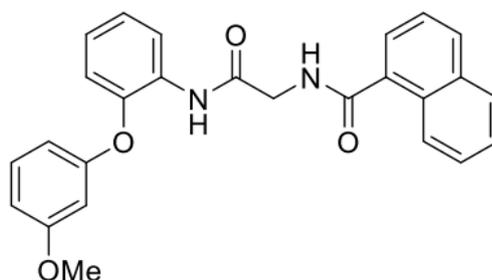
*R-Value Observed*: 0,210

Ligand: 2 *Unique*

1. N-[2-(3-methoxyphenoxy)phenyl]-N~2~-(naphthalene-1-carbonyl)-L-alpha-glutamine; C<sub>29</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>
2. *Chloride Ion*; Cl

## 2.4 AOH1996

AOH1996 adalah suatu senyawa dengan rumus kimia C<sub>26</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub> yang berhasil menargetkan protein *Proliferating Cell Nuclear Antigen* secara spesifik. Senyawa ini mampu menghambat suatu reseptor pada sel kanker ganas dan saat ini dalam Uji Klinis Fase I. AOH1996 menginduksi perubahan siklus sel (penahanan fase G2/M atau S) dan apoptosis pada sel kanker tetapi tidak pada sel non-ganas. Dengan kata lain, senyawa ini secara selektif membunuh sel kanker, dan tidak pada sel normal. Senyawa ini juga ditemukan secara efektif menyerang beberapa jenis kanker berbeda termasuk kanker payudara, prostat, otak, ovarium, dan paru-paru (Gu dkk., 2023).



Gambar 2.3 Struktur kimia AOH1996 (Gu dkk., 2023)

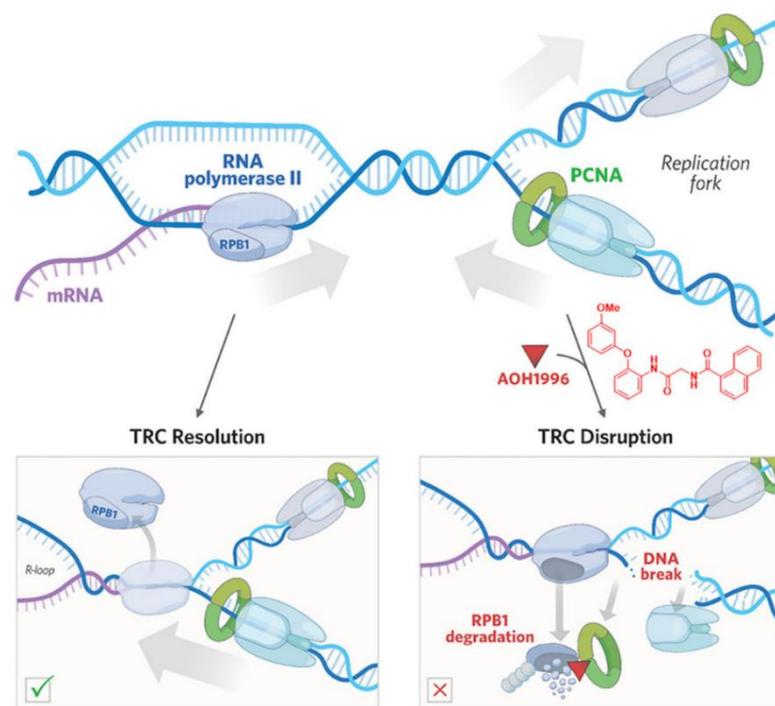
Dalam rantai A dan B dari homotrimer PCNA, molekul AOH1996 berikatan pada rongga kotak PIP. Satu gugus fenil pusat AOH1996 berikatan

dengan sebagian besar wilayah hidrofobik PCNA yang terdiri dari residu His44, Val45, Leu47, Pro234, Tyr250, Leu251, dan Ala252, dan gugus fenil eter kedua berikatan dengan wilayah yang tersusun oleh residu PCNA Met40, Leu47, Leu126, dan Ile128. Bagian kedua AOH1996 berikatan melalui cincin naftalenanya dengan wilayah yang terdiri dari residu PCNA Val233, Pro234, Ala252, dan Pro253. Selain itu, senyawa yang membentuk ikatan hydrogen rantai samping berdekatan dengan residu Asp232. Wilayah PCNA ini terikat oleh kelompok aromatik dari peptida APIM (Motif asam amino PCNA untuk berikatan dengan protein lain) dan kotak PIP. Pada posisi lain satu gugus fenil eter AOH1996 berikatan ke dalam kantong antara Pro234 dan Gln131. Interaksi lain mencakup interaksi T-shaped  $\pi$ -interaction antara gugus naftalena dan satu fenil dari gugus difenil eter yang terikat terpusat AOH1996. Posisi lain AOH1996 juga berinteraksi dengan subunit PCNA yang bertumpuk, mengikat ke dalam kantong yang berbatasan langsung dengan rongga kotak PIP dari subunit ini. Rantai samping glutamat dari senyawa ini meluas ke kantong yang berdekatan membentuk ikatan hidrogen Ser39 dari PCNA, dan sisa gugus fenil eter berikatan dekat residu Met40, Ser42, Val123, dan Leu126.

Secara mekanis, senyawa AOH1996 berikatan dengan cara yang sama ke dalam kotak protein yang berinteraksi dengan PCNA (kotak PIP). Dalam sel, senyawa ini diamati menstabilkan interaksi antara PCNA yang terikat kromatin dan subunit terbesar (RBP1) dari RNA polimerase II (RNAPII) menyebabkan degradasi RPB1 secara keseluruhan dan runtuhnya *replication fork* DNA di daerah kromatin yang ditranskripsi secara aktif. Proses transkripsi dan replikasi sendiri sangat aktif dalam sel kanker yang tumbuh cepat sehingga dapat menimbulkan konflik transkripsi-replikasi (TRC) menyerang onkogen selama fase S dalam sel kanker. Penyelesaian TRC sangat penting bagi pertumbuhan dan kelangsungan hidup sel kanker. Namun, mekanisme untuk mengatasi TRC belum sepenuhnya dapat dijelaskan, dan TRC belum banyak diteliti sebagai target terapi.

Dengan penemuan senyawa AOH1996 dapat dijelaskan mekanisme *Transcription Replication Conflict* sebagai target terapi. Proses dimulai ketika mesin transkripsi dan replikasi bertemu satu sama lain pada kromosom, RNA polimerase untuk sementara dikeluarkan dari lokasi tumbukan, meninggalkan transkrip RNA

yang belum selesai membentuk struktur R-loop dengan cetakan DNA. RPB1 berinteraksi dengan PCNA melalui motif APIM-nya, kemungkinan dengan berinteraksi dengan permukaan hidrofobik luar yang berdekatan dengan IDCL dari PCNA. Pengikatan AOH1996 ke PCNA kemungkinan menstabilkan wilayah IDCL yang tidak teratur, dan kemungkinan meningkatkan interaksi PCNA dengan RPB1. Interaksi ini mencegah perpindahan RNA polimerase dan resolusi TRC, yang mengakibatkan adanya TRC yang belum terselesaikan secara terus-menerus. Hal ini pada gilirannya menyebabkan *Double Strand Breaks* yang mematikan tetapi juga mengganggu mesin transkripsi dengan menyebabkan degradasi RPB1.



Gambar 2.4 Mekanisme kerja AOH1996 pada PCNA (Gu dkk., 2023)

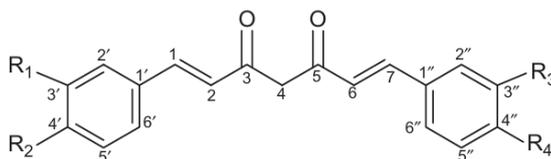
Secara keseluruhan, kehadiran isoform PCNA yang terkait dengan kanker mengganggu PCNA-TRC dalam sel kanker dan memungkinkan AOH1996 memberikan efek antikanker selektif yang kuat, sekaligus mempertahankan profil keamanan klinis yang luar biasa. Mengingat multifungsi PCNA, mekanisme tindakan ini bukanlah satu-satunya cara AOH1996 menggunakan aktivitas antikankernya (Gu dkk., 2023).

## 2.5 Senyawa Kurkumin dan Turunannya

Kurkumin merupakan salah satu senyawa alami dari rimpang kunyit (*Curcuma longa*) dengan aktivitas antikanker yang menjanjikan. Kurkumin memiliki potensi sebagai agen anti-proliferasi dan agen pro-apoptotik pada kanker paru serta memiliki efek kemopreventif dan kemoterapeutik untuk melawan tumor secara in-vitro ataupun in vivo dengan target molekuler seperti Jun N-terminal kinase (JNK), c-Jun/AP-1, p53, NF-kB, dan memengaruhi regulasi jalur phosphoinositide 3-kinase (PI3K)/protein kinase B (Akt)/mTor yang menginduksi inhibisi proliferasi sel, invasi, metastasis, dan angiogenesis serta memicu apoptosis (Wisnawa, 2022).

Struktur kurkumin adalah 1,7 bis (4-hidroksi-3-metoksifenil) 1,6-heptadiene-3,5 dion. Kurkumin adalah senyawa aktif berupa polifenol dengan rumus kimia  $C_{21}H_{20}O_6$ . Kurkumin memiliki dua bentuk tautomer: keton dan enol. Struktur keton lebih dominan dalam bentuk padat, sedangkan struktur enol ditemukan dalam bentuk cairan.

Ciri-ciri struktur khas kurkumin mencakup dua o-metoksi phenol unit, dua gugus enon, dan 1,3-diketon/1,3-keto-enol. Perubahan struktur di semua bagian molekuler ini telah dicoba. Bagian senyawa yang dipertahankan sebagai ciri struktural dasar kurkumin, seperti dua cincin benzena tersubstitusi dimetoksi, –C]C–CO–CH<sub>2</sub>–CO–C] C-linker, dan substituenoksi pada cincin benzene. Turunan kurkumin umumnya disintesis melalui derivatisasi gugus fungsi yang ada di dalamnya kurkumin, contohnya gugus hidroksi fenolik dapat alkilasi atau asilasi, glikosilasi, dan aminoasilasi, sedangkan kelompok metoksi dapat didemetilasi menjadi gugus hidroksi.



Gambar 2.5 Penomoran dalam modifikasi turunan kurkumin (Gupta dkk., 2017)

Secara umum, diyakini bahwa lebih dari separuh obat-obatan yang beredar saat ini berasal dari produk alami. Sifat obat kurkumin dan analognya telah dikenal

sejak lama. Ilmu pengetahuan modern kini telah menyediakan dasar ilmiah untuk berbagai laporan mengenai efek kurkumin. Agen terapeutik yang paling murah dan aman secara farmakologis.

Kurkumin telah dieksplorasi di hampir semua bidang terapi, salah satunya adalah kanker yang utama. Kurkumin secara umum menunjukkan aktivitas biologis yang lebih baik dibandingkan kurkumin DMC dan BDMC. Studi sebelumnya tentang analisis hubungan antara struktur senyawa terkait kurkumin dan kemampuannya untuk menghambat pertumbuhan budidaya sel kanker menunjukkan bahwa penghubung, cincin aromatik, dan penghalang sterik semua sangat penting untuk aktivitasnya. Analisis SAR untuk cincin aromatik menunjukkan bahwa kelompok reaktif seperti metoksi dapat meningkatkan aktivitas antikanker kurkumin (Gupta dkk., 2017).

## 2.6 Parameter Fisika kimia

Sifat-sifat fisika kimia merupakan dasar yang sangat penting untuk menjelaskan aktivitas penghantaran obat ke reseptor. Sebelum mencapai reseptor, molekul obat harus melewati berbagai penghalang membran, berinteraksi dengan senyawa yang ada dalam cairan eksternal dan internal sel serta polimer biologis. Sifat-sifat fisika kimia dihubungkan dengan struktur kimia dan aktivitas biologis obat seperti kelarutan dalam lemak, derajat ionisasi, atau ukuran molekul. Untuk menimbulkan aktivitas biologis molekul obat harus melalui proses-proses berikut.

- a. Proses “perjalanan acak” (*random walk*), yaitu mulai saat obat diberikan, kemudian menembus beberapa membran biologis hingga tempat aksi obat
- b. Pengikatan obat pada tempat reseptor. Proses ini tergantung pada: 1) ukuran molekul obat, termasuk stereokimia dari gugus/substituent; 2) densitas elektron dari gugus/substituen yang terikat.

Dalam konsep Hansch, dikatakan bahwa hubungan struktur kimia dengan aktivitas biologis ( $\log 1/C$ ) suatu turunan senyawa dapat dinyatakan secara kuantitatif melalui parameter-parameter sifat kimia fisika dari substituen yaitu parameter hidrofobik ( $\pi$ ), model hubungan elektronik ( $\sigma$ ) energi bebas dan linier sterik (linear (Es)). Model pendekatan ini disebut pula *free energy relationships* =

LFER atau pendekatan ekstratermodinamik. Pendekatan hubungan struktur-aktivitas melalui parameter sifat kimia fisika oleh Hansch dinyatakan melalui persamaan regresi linier di bawah ini (Siswandono, 2020):

$$\log 1/C = a \sum \pi + b \sum \sigma + c \sum E_s + d$$

C = kadar untuk respons biologis baku.

$\sum \pi$ ,  $\sum \sigma$  dan  $\sum E_s$  = sumbangan sifat-sifat lipofilik, elektronik dan sterik dari gugus-gugus terhadap sifat-sifat senyawa induk yang berhubungan dengan aktivitas biologis.

a, b, c, d dan e = bilangan (tetapan) yang didapat dari perhitungan analisis regresi linier.

Tabel 2.1 Parameter Sifat Fisika Kimia (Siswandono, 2020; Syahputra, 2014)

Parameter	Keterangan	Ketentuan
Parameter Hidrofobik		
LogP	Logaritma koefisien partisi	Tidak melebihi 5
LogS	Logaritma kelarutan dalam air	Tidak kurang dari -6
Parameter Elektronik		
$E_{tot}$	Total energi elektron	Terendah
pKa	Negatif logaritma tetapan ionisasi	Kisaran 6-8
Parameter Sterik		
MR	Refraksi Molar	Kisaran 40-130
BM	Berat Molekul	Tidak lebih dari 500

### 2.6.1 Parameter Hidrofobik

Sifat hidrofobik obat sangat penting untuk mengetahui seberapa mudah molekul tersebut bisa melewati membran sel dan mungkin juga penting untuk interaksi reseptor. Perubahan pengganti pada obat bisa dengan nyata memengaruhi karakter hidrofobiknya dan kemudian aktivitas biologi. Oleh karenanya, sangat penting untuk mengetahui arti dari memperkirakan kuantitasnya (Mughtaridi, 2018). Parameter hidrofobik (lipofilik) yang sering digunakan antara lain adalah logaritma koefisien partisi (logP), tetapan ( $\pi$ ) Hansch-Fujita, tetapan fragmentasi (f) Rekker-Mannhold dan tetapan kromatografi (Rm). Berikut ini penjelasan masing-masing tetapan hidrofobik (Siswandono, 2020).

1. Logaritma Koefisien Partisi (logP): LogP adalah ukuran hidrofobisitas molekul dan menggambarkan seberapa baik suatu molekul dapat terdistribusi antara pelarut nonpolar (biasanya oktanol) dan air. Semakin tinggi nilai logP, semakin hidrofobik molekulnya.
2. Tetapan ( $\pi$ ) Hansch-Fujita: Tetapan ini digunakan dalam korelasi kuantitatif struktur-aktivitas (QSAR) dan mengukur sifat hidrofobik suatu substituen.
3. Tetapan Fragmentasi (f) Rekker-Mannhold: Tetapan ini digunakan untuk mengukur kontribusi fragmentasi molekular terhadap sifat lipofilik atau hidrofobik suatu senyawa.
4. Tetapan Kromatografi ( $R_m$ ): Tetapan ini terkait dengan retensi pada kromatografi cair. Ketika suatu senyawa diuji dalam kromatografi,  $R_m$  menggambarkan sejauh mana senyawa tersebut berinteraksi dengan fase diam (*stationary phase*) dan fase gerak (*mobile phase*).

### 2.6.2 Parameter Elektronik

Pengaruh elektronik dari substituen tertentu akan dengan jelas memberikan dampak pada ionisasi obat atau polaritas. Ini pada gilirannya akan memengaruhi seberapa mudah obat bisa melewati membran sel atau seberapa kuat dia bisa berinteraksi dengan situs yang mengikatnya. Inilah kenapa sangat berguna dalam pengukuran pengaruh elektronik pengganti (Muchtaridi, 2018). Ada tiga jenis sifat elektronik yang digunakan dalam HKSA model LFER Hansch, yaitu (Siswandono, 2020):

- a) Pengaruh berbagai substituen terhadap reaktivitas bagian molekul yang tidak mengalami perubahan. Penetapannya menggunakan perhitungan orbital molekul, Contoh: tetapan  $\sigma$  Hammett.
- b) Sifat elektronik yang berkaitan dengan tetapan ionisasi (pKa) dan berhubungan dengan bentuk terionkan dan tak terionkan dari suatu senyawa pada pH yang tertentu. Penetapannya menggunakan persamaan Henderson-Hasselbach.
- c) Sifat oksidasi-reduksi atau reaktivitas senyawa. Penetapannya menggunakan perhitungan mekanika kuantum dari energi orbital.

Tetapan elektronik yang sering digunakan dalam hubungan struktur dan aktivitas adalah pKa, tetapan ( $\sigma$ ) Hammett, tetapan ( $\sigma_i$ ) Charton, tetapan ( $\sigma^*$ ) Taft,

dan tetapan Swain-Lupton (F dan R). Berikut ini penjelasan masing-masing tetapan elektronik.

1. pKa merupakan ukuran kekuatan asam atau basa suatu senyawa. Ini mencerminkan seberapa mudah suatu senyawa dapat melepaskan atau menerima proton (H<sup>+</sup>). Nilai pKa memberikan informasi tentang kelarutan senyawa dalam larutan asam atau basa, dan dapat memengaruhi aktivitas biologisnya.
2. Tetapan ( $\sigma$ ) Hammett: Tetapan Hammett ( $\sigma$ ) digunakan dalam hubungan struktur-aktivitas untuk senyawa-senyawa organik. Ini merupakan parameter elektronik yang mengukur efek substituen pada reaksi kimia.
3. Tetapan ( $\sigma_i$ ) Charton: Tetapan ini adalah ekstensi dari konsep Hammett. Tetapan Charton ( $\sigma_i$ ) lebih fokus pada pengaruh sterik substituen pada molekul.
4. Tetapan ( $\sigma^*$ ) Taft: Tetapan Taft ( $\sigma^*$ ) digunakan untuk memahami pengaruh elektronik dan sterik substituen pada aktivitas biologis suatu senyawa.
5. Tetapan Swain-Lupton (F dan R): Tetapan ini terkait dengan efek elektronik dan sterik substituen dalam molekul. Tetapan Swain-Lupton (F) mengukur efek substituen pada reaksi kimia, sedangkan tetapan Swain-Lupton (R) lebih fokus pada pengaruh sterik.

### 2.6.3 Parameter Sterik

Kejenuhan, ukuran, dan bentuk obat akan memengaruhi seberapa mudah dia bisa didekati dan berinteraksi dengan situs pengikatnya. Pengganti yang jenuh bisa bertindak seperti pelindung dan pendukung interaksi ideal antara obat dan situs pengikatnya. Bahan-bahan sterik lebih sulit untuk dikuantifikasikan dibandingkan dengan bahan-bahan hidrofobik atau elektronik (Muchtaridi, 2018).

Tetapan sterik substituen dapat diukur berdasarkan sifat meruah gugus-gugus dan efek gugus pada kontak obat dengan sisi reseptor yang berdekatan. Tetapan sterik yang sering digunakan dalam hubungan struktur-aktivitas antara lain adalah tetapan ( $E_s$ ) Taft, tetapan ( $E_s^c$ ) Hancock, tetapan dimensi (volume  $V_w$  dan radius  $r_v$ ) van der Waal's, tetapan ( $U$ ) Charton, dan sterimol Verloop. Karena data tetapan sterik di atas tidak tersedia untuk banyak tipe substituen, parameter sterik yang dihitung secara teoritis juga digunakan dalam hubungan struktur-aktivitas. Parameter sterik tersebut. lain adalah berat molekul (BM = Molecular

Weight=MW), (MR) refraksi molar dan parakor. Berikut ini penjelasan masing-masing tetapan sterik (Siswandono, 2020).

1. Tetapan Sterik Taft ( $E_s$ ): Tetapan Taft ( $E_s$ ) mengukur efek sterik substituen pada reaksi kimia. Ini memberikan gambaran tentang sejauh mana substituen dapat mempengaruhi aktivitas biologis suatu senyawa melalui efek steriknya.
2. Tetapan Sterik Hancock ( $E_s^c$ ): Tetapan Hancock ( $E_s^c$ ) juga mengukur efek sterik substituen dalam molekul. Ini membantu dalam memahami sejauh mana perubahan ukuran substituen dapat mempengaruhi reaktivitas.
3. Tetapan Dimensi van der Waals ( $V_w$  dan  $r_v$ ): Tetapan ini melibatkan volume ( $V_w$ ) dan radius ( $r_v$ ) van der Waals substituen. Volume van der Waals mencerminkan seberapa besar substituen, sedangkan radius van der Waals mencerminkan ukurannya.
4. Tetapan Sterik Charton (U): Tetapan Charton (U) adalah ukuran yang mencakup efek sterik dan elektronik substituen pada reaktivitas.
5. Sterimol Verloop: Sterimol adalah serangkaian parameter sterik yang dikembangkan oleh Verloop. Ini mencakup parameter seperti Sterimol B1, Sterimol L1, dan Sterimol R1, yang berkaitan dengan dimensi dan bentuk substituen serta interaksi sterik.

Selain tetapan-tetapan eksperimental, terdapat juga parameter sterik yang dihitung secara teoritis, termasuk:

1. Berat Molekul ( $BM = Molecular\ Weight = MW$ ): Berat molekul suatu senyawa memberikan indikasi tentang ukurannya secara umum. Meskipun tidak memberikan informasi spesifik tentang bentuk atau dimensi substituen, berat molekul dapat digunakan sebagai parameter sterik kasar.
2. Refraksi Molar (MR): Refraksi molar adalah ukuran untuk menunjukkan kedudukan atom-atom pada suatu molekul dan dapat digunakan sebagai indikator sifat steriknya.
3. Parakor: Parakor (Parachor) adalah parameter fisik yang mencakup aspek-aspek seperti volume, permukaan, dan energi dispersi. Ini dapat digunakan untuk memahami sifat sterik dan hidrofobik suatu molekul.

## 2.7 Penambatan Molekuler

Dalam pengembangan suatu obat, dibutuhkan waktu yang lama dan biaya yang sangat mahal sehingga banyak dikembangkan penelitian- penelitian baru yang berbasis komputasi. Metode-metode seperti CADD (*computer-aided drug design*) dan CAMD (*computer-aided molecular design*) sekarang banyak digunakan dalam merancang, menemukan dan melakukan optimasi molekul bioaktif sebagai calon obat yang menjanjikan. Dalam metode CADD terdapat dua pendekatan, yaitu *Structure-Based Drug Design* (SBDD) dan *Ligand-Based Drug Design* (LBDD). Pendekatan SBDD dan LBDD telah diterapkan sebagai alat penemuan obat di dunia akademis maupun industri. *Molecular docking* menjadi salah satu metode yang sering digunakan dalam LBDD karena kemampuannya untuk meniru interaksi antara ligan dengan protein dengan tingkat keakuratan yang besar dan menghemat biaya serta waktu (Sudarno & Suhud, 2021).

Algoritma *docking* juga mampu memprediksi pengikatan ligan, molekul kecil, peptida, dan protein. Hasil *docking* antara ligan dan protein dapat divisualisasikan dengan aplikasi *Discovery Studio*, *VMD*, *Pymol* dan lain-lain sehingga nantinya bentuk konformasi optimal dapat diketahui. Studi Interaksi antara protein dengan ligan atau obat merupakan hal yang sangat penting dalam pengembangan obat baru (Putra, 2022).

Pada penelitian ini digunakan program *AutoDock* untuk melakukan studi interaksi protein dengan ligan. Prinsip dari program *AutoDock* adalah mengevaluasi dari energi bebas, torsional bebas dari konformasi ikatan yang terbentuk antara protein dan ligan berdasarkan energi *forcefield* pada algoritma, serta kekuatan kompleks ligan-protein yang terbentuk secara kuantitatif dengan melihat nilai tetapan inhibisi. Dalam simulasi *docking* molekuler, skor terbaik adalah skor afinitas pengikatan terendah yang diperoleh untuk kompleks reseptor ligan tertentu. Program perangkat lunak *docking*, seperti *AutoDock Vina* dapat menghitung skor afinitas pengikatan untuk mewakili kekuatan interaksi antara ligan dan reseptor.

*AutoDock Vina* adalah program perangkat lunak *docking* molekuler yang bertujuan untuk memprediksi pose pengikatan ligan yang stabil pada reseptor protein. Tujuan utamanya adalah membantu merancang molekul baru untuk target

protein spesifik dengan mensimulasikan interaksi ligan-reseptor. Dengan menggunakan algoritme pengoptimalan secara global dan sistem penilaian berbasis energi. *AutoDock Vina* menunjukkan prediksi (Sarkar dkk., 2024):

1. Skor afinitas pengikatan yang diberikan untuk setiap pose ligan. Skor yang lebih rendah menunjukkan interaksi pengikatan yang lebih kuat.
2. Interaksi yang spesifik, seperti ikatan hidrogen, kontak hidrofobik, dan interaksi elektrostatik. Interaksi ini berkontribusi pada stabilitas kompleks reseptor ligan.
3. Orientasi dan konformasi ligan pada tempat pengikatan, seperti benturan sterik, posisi gugus fungsi yang tepat, dan kesesuaian dalam daerah reseptor.

Akurasi hasil *docking* perlu dilakukan untuk mengukur ketepatan algoritma dari program untuk menentukan posisi dari konformasi antara protein dan ligan. Parameter dari nilai akurasi tersebut adalah *Root Mean Deviation Square* (RMSD). RMSD ditentukan dengan membandingkan antara posisi atom-atom ligan secara eksperimental dan posisi berdasarkan pada prediksi algoritma. Fleksibilitas dari ligan tersebut dapat mempengaruhi ketepatan posisi kompleks yang terbentuk. Hasil *Docking* yang baik adalah nilai RMSD kurang dari 2 Å.

Hasil *docking* yang baik juga dapat dilihat dengan membandingkan nilai energi bebas Gibbs ( $\Delta G$ ), tetapan inhibisi, dan interaksi ikatan hidrogen antara ligan dan protein. Berdasarkan pada nilai  $\Delta G$  tersebut menggunakan persamaan Gibbs maka akan diperoleh nilai tetapan inhibisi ( $K_i$ ).

$$\Delta G = RT \ln K_i$$

R = tetapan gas ideal

T = tetapan suhu mutlak

Ikatan pembentukan kompleks yang kuat ditandai dengan nilai  $\Delta G$  yang rendah, tetapan inhibisi rendah, dan banyaknya jumlah interaksi ikatan hidrogen. Tanda negatif pada nilai energi bebas Gibbs serta nilai konstanta inhibisi yang semakin kecil, menunjukkan kompleks yang terbentuk antara ligan dan standar sangat kuat. Hal ini disebabkan oleh meningkatnya energi torsional dari kompleks tersebut sehingga membuat kompleks enzim dan ligan menjadi stabil. Nilai energi bebas Gibbs tersebut merupakan kontribusi interaksi antara protein dengan ligan, interaksi tersebut terjadi secara intermolekul, yaitu Van der Waals atau ikatan

hidrogen. Visualisasi interaksi antara protein dan ligan dapat dilihat dari interaksi elektrostatik dengan menggunakan Pymol (Noviardi & Fachrurrazie, 2015).

## 2.8 Analisis Regresi

Dalam menganalisis konformasi ligan pada sisi aktifnya makromolekul target yang akan diprediksi aktivitas biologis dapat digunakan metode HKSP. Hubungan Kuantitatif Struktur Properti (HKSP) adalah persamaan yang digunakan untuk menggambarkan hubungan matematis antara sifat fisikokimia dan salah satunya parameter farmakokinetik menggunakan regresi linear. Selain itu, HKSP bisa menentukan parameter fisikokimia paling berpengaruh dalam sintesis senyawa. Oleh karena itu, HKSP sangat bermanfaat dalam proses menentukan zat yang bisa berpotensi untuk disintesis dan dikembangkan sebagai obat kanker (Widiyana dkk., 2023).

Hubungan antara dua atau lebih variabel berbeda dapat digambarkan dengan ukuran koefisien korelasi. Besar kecilnya koefisien korelasi berguna dalam mengukur tingkat kekuatan hubungan antara dua atau lebih variabel dalam rentang tertentu. Tingkat keeratan hubungan pada korelasi ini terletak antara rentang 0 hingga 1. Korelasi memiliki kemungkinan pengujian secara dua arah. Apabila koefisien korelasi bernilai positif dikatakan korelasi searah, dan sebaliknya jika koefisien korelasi bernilai negatif maka dikatakan korelasi tidak searah. Nilai koefisien korelasi terletak antara -1 hingga 1. Pada statistik, koefisien korelasi sangat berkaitan dengan persamaan regresi karena persamaan regresi sendiri mewakili persamaan hubungan antara dua atau lebih variabel (Wibowo & Kurniawan, 2020).

Tabel 2.2 Interpretasi terhadap Koefisien Korelasi HKSP (Indrawan & Dewi, 2020)

Interval Koefisien	Tingkat Hubungan
0,00-0,199	Sangat rendah
0,20-0,399	Rendah
0,40-0,599	Sedang
0,60-0,799	Kuat
0,80-1,000	Sangat Kuat

Perhitungan statistik yang dapat digunakan dalam menganalisis Hubungan Kuantitatif Struktur Properti melalui parameter-parameter kimia fisika adalah analisis regresi linier. Perhitungan regresi linier digunakan untuk mencari hubungan antara nilai aktivitas dengan satu parameter kimia fisika atau lebih. Regresi linier untuk satu parameter kimia fisika dinyatakan melalui persamaan berikut.

$$Y = aX + b$$

Y = nilai aktivitas penambatan molekuler (variabel tergantung)

X = parameter kimia fisika (variabel tidak tergantung)

a,b = koefisien regresi

Dapat pula digunakan persamaan sebagai berikut.

$$Y = - aX + b$$

Regresi linier untuk dua dan tiga parameter kimia fisika, dapat dinyatakan melalui persamaan-persamaan sebagai berikut.

$$Y = aX_1 + bX_2 + c$$

$$Y = aX_1 + bX_2 + cX_3 + d$$

X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, dan X<sub>3</sub> = parameter-parameter kimia fisika 1, 2 dan 3.

Dasar persamaan yang diperoleh dan arti perbedaan parameter yang digunakan dalam hubungan struktur-aktivitas model Hansch, dapat dilihat dengan beberapa kriteria statistik, seperti r, r<sup>2</sup>, F, t dan s.

- a) Nilai r (koefisien korelasi) menunjukkan tingkat hubungan antara data nilai aktivitas penambatan molekuler dengan data hasil perhitungan berdasarkan persamaan yang diperoleh dari analisis regresi. Koefisien korelasi adalah angka yang bervariasi mulai dari 0 sampai 1. Semakin tinggi nilainya semakin baik hubungannya. Untuk mendapatkan nilai koefisien korelasi yang dapat diterima tergantung jumlah data penelitian. Semakin banyak jumlah data penelitian semakin rendah koefisien korelasi atau nilai r yang dapat diterima. Dalam penelitian hubungan struktur-properti dicoba dicapai suatu nilai r yang lebih besar dari 0,8.
- b) Nilai r<sup>2</sup> menunjukkan berapa % nilai aktivitas yang dapat dijelaskan hubungannya dengan parameter sifat kimia fisika yang digunakan. Contoh: suatu

hubungan yang mempunyai koefisien korelasi ( $r = 0,990$ ) berarti dapat menjelaskan  $(0,990)^2 \times 100\% = 98\%$  dari variasi antar data.

- c) Nilai F menunjukkan kemaknaan hubungan bila dibandingkan dengan tabel F. Nilai F adalah indikator bilangan untuk menunjukkan bahwa hubungan, yang dinyatakan oleh persamaan adalah benar atau merupakan kejadian kebetulan. Semakin tinggi nilai F semakin kecil kemungkinan hubungan tersebut adalah karena kebetulan. Makin besar nilai F makin besar derajat kemaknaan hubungan.
- d) Nilai t menunjukkan perbedaan koefisien regresi a, b, c dan d dari persamaan regresi bila dibandingkan dengan tabel t. Semakin tinggi kesalahan baku semakin kecil koefisien itu dapat dipercaya dan semakin kecil pula kemungkinan bahwa variabel itu dapat dihubungkan dengan respons interaksi ligan-reseptor.
- e) Nilai s (simpangan baku) menunjukkan nilai variasi kesalahan dalam percobaan. Simpangan baku dapat menunjang kesimpulan yang diberikan pada koefisien korelasi. Semakin kecil nilai simpangan baku semakin tinggi derajat kemaknaan.

HKSP dapat dihitung dengan program komputer tertentu, seperti IBM SPSS, Statgraphics, SAS, Minitab, dan Statistica. Hasil analisis regresi adalah persamaan HKSP, yang kemudian dievaluasi untuk merancang senyawa analog lain, dalam upaya mengembangkan dan menyempurnakan hubungan tersebut (Siswandono, 2020).

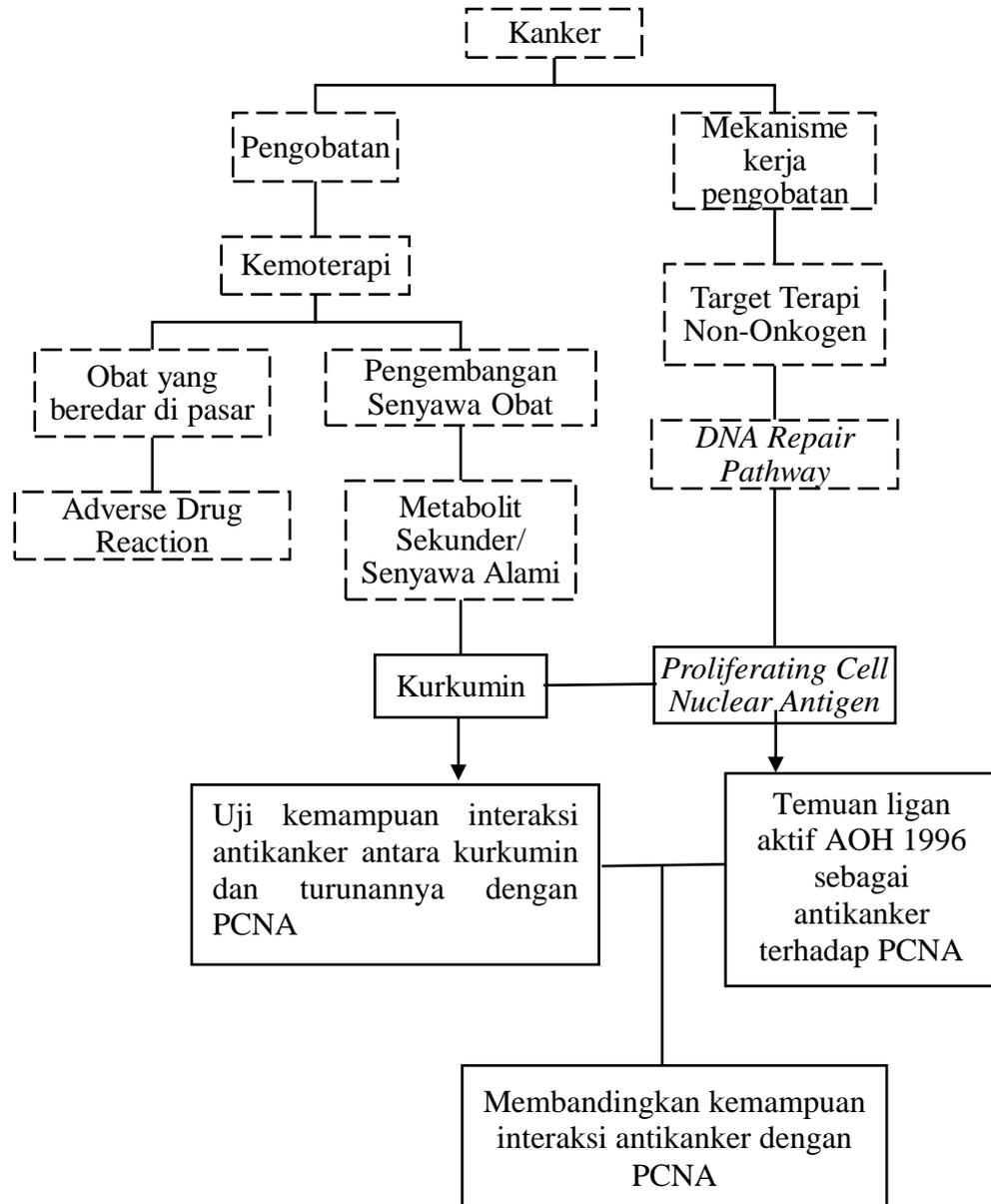
## 2.9 Penelitian Terdahulu

Tabel 2.3 Penelitian terdahulu

No.	Artikel	Hasil Penelitian
1.	<i>Inhibition of NF-κB translocation by curcumin analogs induces G0/G1 arrest and downregulates thymidylate synthase in colorectal cancer</i> (Rajitha dkk., 2016)	Penelitian ini menunjukkan bahwa analog kurkumin EF31 dan UBS109 memiliki implikasi terapeutik potensial pada kanker kolorektal dengan menghambat translokasi NF-κB, menurunkan regulasi <i>thymidylate synthase</i> , menginduksi penghentian siklus sel, dan menghambat pertumbuhan tumor in vivo.

2.	<p><i>Curcumin and its analogues (PGV-0 and PGV-1) enhance sensitivity of resistant MCF-7 cells to doxorubicin through inhibition of HER2 and NF-kB activation</i> (Meiyanto dkk., 2014)</p>	<p>Penelitian ini menunjukkan kombinasi doxorubicin, kurkumin dan analognya menunjukkan efek sinergis, meningkatkan sitotoksitas doxorubicin pada sel MCF-7 kanker payudara. Analisis <i>docking</i> molekuler menunjukkan senyawa ini berikatan secara efektif dengan situs pengikatan ATP pada HER2.</p>
3.	<p><i>Anticancer potential of novel curcumin analogs towards castrate-resistant prostate cancer</i> (Chen dkk., 2018)</p>	<p>Penelitian ini menunjukkan potensi antikanker analog kurkumin baru senyawa RL118 dan RL121 yang memberikan efek sitotoksik yang kuat pada sel CRPC, menginduksi penghentian siklus sel dan apoptosis.</p>
4.	<p><i>Small molecule targeting of transcription-replication conflict for selective chemotherapy</i> (Gu dkk., 2023)</p>	<p>Hasil penelitian ini menunjukkan potensi <i>Proliferating Cell Nuclear Antigen</i> (PCNA) sebagai target antikanker, serta penemuan inhibitorynya, yakni AOH1996 yang secara selektif membunuh sel kanker sebagai monoterapi atau kombinasi tetapi tidak menimbulkan efek samping yang terlihat.</p>

## 2.10 Kerangka Konseptual



Gambar 2.6 Diagram kerangka konsep

Keterangan:



=Diteliti



=Tidak diteliti

## 2.11 Hipotesis

Berdasarkan dasar teori tersebut, maka didapatkan hipotesis penelitian sebagai berikut.

1. Senyawa kurkumin dan turunannya sebagai potensi antikanker memiliki prediksi energi interaksi lebih baik daripada senyawa ligan AOH1996 terhadap reseptor PCNA dengan metode penambatan molekuler.
2. Terdapat hubungan sifat fisika kimia pada senyawa kurkumin dan turunannya sebagai potensi antikanker terhadap prediksi energi interaksi dengan reseptor PCNA.