

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Kanker adalah penyakit tidak menular yang menjadi beban kesehatan di dunia, termasuk Indonesia. Menurut Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas), prevalensi kanker di Indonesia mengalami kenaikan dari 1,4 per 1.000 penduduk di tahun 2013 menjadi 1,79 per 1.000 penduduk di tahun 2018.¹ Menurut data *Global Cancer Observatory* (GCO) (2018), jenis kanker terbanyak di Indonesia yaitu kanker payudara, diikuti kanker leher rahim, dan kanker paru-paru.²

Pengobatan kanker yang dapat dilakukan adalah kemoterapi. Tujuan dari kemoterapi ini adalah membunuh sel kanker dengan selektif, tetapi tidak merusak sel normal.³ Namun, tujuan tersebut sering mengalami kegagalan yang disebabkan karena resistensi sel kanker terhadap antikanker, banyak sel kanker yang tidak dianggap asing bagi inangnya, dan kurangnya selektivitas antikanker menyebabkan efek samping.⁴ Oleh karena itu, banyak penelitian pengembangan obat kanker yang bertujuan untuk mendapatkan antikanker yang lebih selektif, aktivitas lebih tinggi serta toksisitas rendah.

Salah satu senyawa yang memiliki aktivitas sitotoksik dan dapat digunakan sebagai agen antikanker adalah senyawa golongan urea. HU adalah senyawa golongan urea pertama yang bekerja dengan menghambat sintesis *deoxyribonucleic acid* (DNA) melalui penghambatan enzim ribonukleotida

reduktase (RNR).⁵ Namun penggunaan HU secara klinik mulai berkurang karena aktivitasnya yang belum maksimal. Hal ini disebabkan sifatnya yang hidrofilik sehingga kemampuan ke dalam membran biologis sel kurang baik.⁶ Oleh karena itu banyak penelitian yang dilakukan terhadap turunan senyawa HU, salah satunya adalah thiourea. Beberapa penelitian senyawa turunan thiourea telah dilakukan dan menunjukkan hasil aktivitas sitotoksik yang lebih besar dibanding HU. Dari penelitian Nasyanka., dkk. (2017) menunjukkan bahwa senyawa N-benzoil-N'-(4-fluorofenil)tiourea dan ketiga turunannya menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap lini sel MCF-7 secara *in silico*.⁷

Dikarenakan potensinya yang besar sebagai agen antikanker, pada penelitian ini akan dikembangkan turunan thiourea baru yang belum pernah diteliti sebelumnya yaitu senyawa *2-phenyl-N-(p-tolylcarbamoithioidyl)acetamide* yang diduga memiliki aktivitas sitotoksik yang lebih besar dibandingkan HU. Kehadiran gugus aromatis pada senyawa akan membentuk suatu interaksi hidrofobik dengan asam amino. Kehadiran cincin aromatik dapat meningkatkan kekuatan interaksi antara ligan dengan protein melalui interaksi hidrofobik. Selain itu, nilai log P dari HU sebesar -1,12, sedangkan nilai log P dari senyawa *2-Phenyl-N-(p-Tolylcarbamoithioidyl)Acetamide* sebesar 3,74 yang berarti *2-Phenyl-N-(p-Tolylcarbamoithioidyl)Acetamide* memiliki lipofilisitas yang lebih besar dibandingkan HU.⁸ Ketika lipofilisitas senyawa ini meningkat, kemampuan mereka untuk menembus membran diharapkan meningkat sehingga memberikan aktivitas antikanker yang lebih besar.

Senyawa ini akan disintesis dan dikonfirmasi strukturnya dengan spektrofotometri UV-Vis, IR, massa, dan $^1\text{H-NMR}$. Pengujian aktivitas sitotoksik akan dilakukan melalui metode BSLT. Uji ini dilakukan sebagai uji pendahuluan karena biaya yang lebih murah, cepat, praktis, dan tidak memerlukan teknis yang aseptis.⁹ Penelitian ini juga akan dilakukan uji *in silico* dengan cara *molecular docking* untuk mengetahui mekanisme kerja dan selektivitas senyawa menggunakan aplikasi PLANTS.

1.2 Permasalahan penelitian

- 1) Bagaimana hasil sintesis senyawa *2-phenyl-N-(p-tolylcarbamoithiyl)acetamide* dan berapa besar %yield?
- 2) Bagaimana aktivitas sitotoksik senyawa *2-phenyl-N-(p-tolylcarbamoithiyl)acetamide* berdasarkan uji BSLT?
- 3) Bagaimana potensi dan selektivitas senyawa *2-phenyl-N-(p-tolylcarbamoithiyl)acetamide* berdasarkan uji *in silico* ?

1.3 Tujuan penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk melakukan penelusuran aktivitas sitotoksik senyawa baru turunan urea berdasarkan metode BSLT. Adapun tujuan khusus sebagai berikut:

- 1) Mengetahui apakah senyawa *2-phenyl-N-(p-tolylcarbamoithiyl)acetamide* dapat disintesis dengan *yield* yang besar
- 2) Mengetahui aktivitas sitotoksik senyawa *2-phenyl-N-(p-tolylcarbamoithiyl)acetamide* berdasarkan uji BSLT

- 3) Mengetahui potensi dan selektivitas senyawa *2-phenyl-N-(p-tolylcarbamoethyl)acetamide* berdasarkan uji *in silico*

1.4 Manfaat penelitian

Penelitian bermanfaat dalam pengembangan agen kemoterapi baru yang memiliki aktivitas sitotoksik dan selektivitas yang tinggi, serta sebagai langkah awal dalam pengembangan agen kemoterapi yang mampu menjawab permasalahan resistensi sel kanker.

1.5 Keaslian penelitian

Penulis mencoba mencari literatur untuk studi mengenai sintesis senyawa baru turunan thiourea dan uji sitotoksik dengan metode BSLT dan tidak menemukan karya penelitian sebelumnya atau publikasi mengenai topik tersebut. Namun, ada beberapa penelitian yang mirip dengan penelitian ini, misalnya:

Tabel I.1 Keaslian penelitian

Jurnal	Metode penelitian	Hasil penelitian
Nasyanka, A.L., <i>et al.</i> <i>Docking, synthesis, and cytotoxic activity of N-4-methoxybenzoyl-N'-(4-fluorophenyl)thiourea on HeLa cell line. Thai Journal of Pharmaceutical Sciences.</i> 2017. 41 (3): 99-102. ⁷	<i>Docking</i> reseptor Sirtuin-1 dengan PDB ID: 4I5I menggunakan Molegro Virtual Docker (MVD) v5.5. Kemudian, disintesis melalui dua tahap reaksi masing-masing menggunakan ammonium tiosianat, 4-metoksibenzoil klorida, dan 4-fluoroanilin sebagai prekursor.	Hasil <i>docking</i> menunjukkan bahwa nilai <i>Rerank Score</i> (RS) lebih rendah dari HU yang diprediksi memiliki aktivitas biologis lebih tinggi. Sedangkan hasil dari uji MTT menunjukkan bahwa

Tabel I.1 Keaslian penelitian (lanjutan)

Jurnal	Metode penelitian	Hasil penelitian
	Konfirmasi struktur senyawa menggunakan spektrofotometri UV-Vis, IR, ¹ H-NMR, ¹³ C-NMR, aktivitas sitotoksiknya terhadap sel HeLa diuji menggunakan metode <i>microculture tetrazolium salt</i> (MTT).	N-4-methoxybenzoyl-N'-(4-fluorophenyl)thiourea mempunyai nilai IC ₅₀ lebih rendah daripada HU. Kesimpulannya, senyawa baru, N-4-metoksibenzoil-N'-(4-fluorofenil) tiourea memiliki aktivitas antikanker lebih baik daripada HU.
Kesuma, Dini., dkk. Uji <i>in silico</i> Aktivitas Sitotoksik dan Toksisitas Senyawa Turunan N-(Benzoil)-N'-feniltiourea Sebagai Calon Obat Antikanker. <i>Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research</i> . 2018. 01. 01-11. ¹⁰	Analisis <i>in silico</i> dilakukan dengan cara mengikat target <i>vascular endothelial growth factor receptor-2</i> (VEGFR-2) (kode pdb: 3WZE) dan 23 ligan berupa senyawa turunan N-(benzoil)-N'-feniltiourea menggunakan program MVD dan uji toksisitas menggunakan program pkCSM dan ProTox.	Semua turunan N-(benzoil)-N'-feniltiourea diperkirakan kurang toksik dan lebih sitotoksik dibandingkan HU dalam uji <i>in silico</i> .
Widiandani, Tri., dkk. <i>Anticancer evaluation of N-benzoyl-3-allylthiourea as potential antibreast cancer agent through enhances HER-2 expression.</i>	Prediksi sifat absorpsi, distribusi, metabolisme, ekskresi, dan toksisitas (ADMET) senyawa N-benzoil-3-allylthiourea dilakukan dengan menggunakan program alat.	Hasil penelitian menunjukkan bahwa efek sitotoksitas N-benzoil-3-allylthiourea pada lini sel MCF-7/HER-2 lebih tinggi dibandingkan pada lini.

Tabel I.1 Keaslian penelitian (lanjutan)

Jurnal	Metode penelitian	Hasil penelitian
<i>Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research.</i> 2020. 11 (4): 163-168. ¹¹	pkCSM online. Uji <i>in silico</i> menggunakan target <i>epidermal growth factor reseptor</i> (EGFR) dengan kode ID 3PP0 yang diunduh PDB, sedangkan uji sitotoksik menggunakan metode MTT dan <i>western blot</i> terhadap lini sel MCF-7 dengan overekspresi HER-2.	sel MCF-7. Selain itu, efek sitotoksik N-benzoil-3-allylthiourea pada MCF-7 dan MCF-7/HER-2 lebih tinggi daripada allylthiourea.
Eshkil, Fatemeh., <i>et al.</i> <i>Benzothiazole Thiourea Derivatives as Anticancer Agents: Design, Synthesis, and Biological Screening.</i> <i>Russian Journal of Bioorganic Chemistry.</i> 2017. 43 (5): 576–582. ¹²	Sintesis senyawa dilakukan dengan mereaksikan benzotiazol 2-amino tersubstitusi dengan karbon disulfida dan dimetil sulfat diikuti dengan ammonolisisnya. Sitotoksitas keempat senyawa dilakukan terhadap sel kanker payudara manusia (MCF-7), karsinoma epitel serviks manusia (HeLa), lini sel kanker usus besar manusia (HT-29), lini sel leukemia manusia (K-562), dan garis sel neuroblastoma tikus (neuro-2a) menggunakan cisplatin sebagai referensi dengan uji MTT.	Berdasarkan hasil <i>flow cytometry</i> , perlakuan sel HT-29 dengan 1-(6-etoksi-1,3-benzothiazol-2-yl) thiourea menghasilkan populasi sel apoptosis yang besar (79,45%), yaitu 1,2 kali lipat lebih tinggi dari yang dihasilkan oleh cisplatin (65,28%) pada konsentrasi yang sama.

Tabel I.1 Keaslian penelitian (lanjutan)

Jurnal	Metode penelitian	Hasil penelitian
Kesuma, Dini., dkk. Synthesis of N-(phenylcarbamothioyl)-benzamide derivatives and their cytotoxic activity against MCF-7 cellsG. <i>Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences</i> . 2018. 27 (10): 696–702. ¹³	Pemodelan molekul <i>in silico</i> dengan target reseptor EGFR (kode PDB: 1M17). Senyawa tersebut selanjutnya disintesis dari reaksi antara turunan benzoil klorida dan N-feniltiourea. Struktur senyawa baru diidentifikasi menggunakan FTIR, ¹ H-NMR, ¹³ C-NMR serta spektrum massa. Uji sitotoksik dengan MTT <i>assay</i> .	Kedua senyawa baru memiliki aktivitas sitotoksik yang lebih baik daripada obat antikanker berbasis HU saat ini (senyawa referensi) dengan nilai IC ₅₀ 9,76 mM. Selanjutnya, kedua senyawa baru ini tidak bersifat toksik bagi sel normal Vero.

1) Perbedaan antara penelitian ini dengan penelitian Nasyanka, A., *et al.*⁷

Penelitian ini memiliki perbedaan dengan penelitian Nasyanka, A.L., *et al.* yang terletak pada target, substituen, dan metode uji sitotoksik. Pada penelitian Nasyanka, A.L., *et al.* target yang dipilih yaitu Sirtuin-1, sedangkan pada penelitian ini yaitu target *Estrogen Receptor Alpha* (ER α), VEGFR-2, dan *Anaplastic Lymphoma Kinase* (ALK). Selanjutnya, uji sitotoksik yang dilakukan oleh Nasyanka, A.L., *et al.* yaitu MTT *assay*, sedangkan penelitian ini menggunakan metode BSLT. Selain itu, substituen pada penelitian Nasyanka, A.L., *et al.* yaitu benzil klorida, sedangkan substituen pada penelitian ini adalah fenil asetil klorida.

- 2) Perbedaan antara penelitian ini dengan penelitian Kesuma, D., dkk.¹⁰

Pada penelitian ini dengan penelitian Kesuma, Dini., dkk. terdapat perbedaan, seperti substituen senyawa turunan thiourea dan target. Pada penelitian Kesuma, Dini., dkk. substituen senyawa turunan thiourea menggunakan benzoil klorida, sedangkan penelitian ini menggunakan substituen fenil asetil klorida. Selain itu, target yang dipilih pada penelitian Kesuma, Dini., dkk. yaitu VEGFR-2 tirosin kinase, sedangkan penelitian ini menggunakan 3 target yaitu ER α , VEGFR-2, dan ALK.

- 3) Perbedaan antara penelitian ini dengan penelitian Widiandani, T., dkk.¹¹

Penelitian ini memiliki perbedaan dengan penelitian Widiandani, Tri., dkk. yang terletak pada substituen yang digunakan, metode uji sitotoksik, dan target. Substituen pada penelitian Widiandani, Tri., dkk. menggunakan gugus allyl, sedangkan pada penelitian ini menggunakan fenil asetil klorida. Perbedaan selanjutnya yaitu metode uji sitotoksik yang dilakukan oleh Widiandani, Tri., dkk. yaitu uji MTT dan Western blot, sedangkan pada penelitian ini menggunakan metode BSLT. Target pada penelitian Widiandani, Tri., dkk. adalah EGFR, sedangkan pada penelitian ini adalah ER α , VEGFR-2, dan ALK.

- 4) Perbedaan antara penelitian ini dengan penelitian Eshkil, F., *et al.*¹²

Perbedaan antara penelitian ini dengan penelitian oleh Eshkil, *et al* terletak pada senyawa pembanding, metode uji sitotoksik, dan uji *in silico*. Penelitian oleh Eshkil, *et al.*, senyawa pembanding yang digunakan adalah cisplatin, tidak terdapat uji *in silico*, dan metode uji sitotoksik yang

dilakukan yaitu metode MTT. Sedangkan pada penelitian ini senyawa pembanding adalah HU, terdapat uji *in silico*, dan uji sitotoksik menggunakan metode BSLT.

5) Perbedaan antara penelitian ini dengan penelitian Kesuma, D., dkk.¹³

Perbedaan antara kedua penelitian terletak pada target yang dipilih dan metode uji sitotoksik yang digunakan. Pada penelitian Kesuma, Dini., dkk., pemodelan *in silico* menggunakan target EGFR, sedangkan pada penelitian ini menggunakan target ER α , VEGFR-2, dan ALK. Selain itu, metode uji sitotoksik yang digunakan pada penelitian Kesuma, Dini., dkk. yaitu metode uji MTT, sedangkan pada penelitian ini menggunakan metode uji BSLT