

BAB I

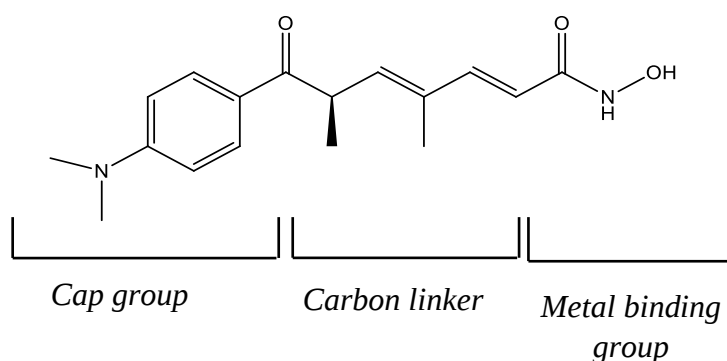
PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Kanker merupakan penyakit yang disebabkan karena perubahan regulasi epigenetik pada ekspresi gen (Gatla et al., 2019). Global Cancer Observatory (GLOBOCAN) 2020 melaporkan bahwa jumlah kasus kanker baru di Indonesia adalah 396.914 jiwa, dengan jumlah kematian 234.511 (59,08%). Kanker dengan kejadian terbanyak pada laki-laki adalah kanker kolorektal (369 kasus [5,7%]) dan kanker hati (359 kasus [4,7%]), sedangkan kanker dengan kejadian terbanyak pada wanita adalah kanker payudara (1008 kasus [12,9%]), leukemia (683 kasus [8,7%]), dan kanker serviks (631 kasus [8,1%]) (Prihantono et al., 2023). Kanker payudara telah diidentifikasi sebagai penyebab utama kematian pada urutan kedua setelah kanker paru-paru. Data WHO tahun 2022, sebanyak 2,3 juta wanita didiagnosis menderita kanker payudara dengan angka kematian 670.000 jiwa (WHO, 2022). Jenis kanker payudara yang sering ditemukan adalah kanker dengan subtype sel *Triple-Negative Breast Cancer* (TNBC). Kanker jenis ini tidak memiliki ekspresi terhadap reseptor estrogen (ER), reseptor progesteron (PR) dan reseptor *Human Epidermal Growth Factor Receptor* (HER2) (X. Zhang et al., 2017) (Palomeras et al., 2018). Kanker payudara jenis ini memiliki perilaku agresif, pertumbuhan sel yang cepat dan resisten terhadap kemoterapi. TNBC sering kali dikaitkan dengan *Breast Cancer Stem Cells* (BCSCs), yang juga memiliki potensi *self-renewal*, diferensiasi sel dan tumorigenic. Potensi ini akan meningkatkan protein pembawa efuks obat sehingga penyerapan obat di usus akan berkurang. Kondisi ini akan membuat sel BCSCs kurang rentan terhadap kematian sel terprogram yang dipicu oleh obat kemoterapi (Dasari et al., 2024). Kelangsungan hidup sel BCSCs setelah kemoterapi dapat menyebabkan munculnya tumor di masa mendatang dan kekambuhan berikutnya (Pindiprolu et al., 2017).

Imunoterapi menjadi pendekatan baru yang dilakukan dalam meningkatkan kelangsungan hidup pasien kanker payudara, disamping pembedahan, radiasi dan kemoterapi (L. Zhang et al., 2023). Imunoterapi akan bekerja dengan meningkatkan kemampuan sistem kekebalan tubuh untuk mengenali dan menyerang sel kanker. Dalam beberapa kasus dengan tipe dan stadium kanker payudara yang berbeda,

imunoterapi menyebabkan resistensi primer atau resistensi yang dapat melemahkan hasil terapi (Lian et al., 2023). *Histon asetiltransferase* (HATs) merupakan protein yang membungkus DNA dan berfungsi menambahkan gugus asetil (CH₃CO) pada residu lisin sehingga struktur kromatin terbuka dan terjadi proses ekspresi gen atau transkripsi DNA. Proses ini berkebalikan dengan protein *Histon deasetilase* (HDAC), Protein HDAC akan menghilangkan gugus asetil pada residu lisin sehingga interaksi positif antara histon dan DNA yang bermuatan negatif akan semakin kuat sehingga struktur kromatin semakin rapat dan menghambat proses ekspresi gen (Haberland et al., 2009) (Højfeldt et al., 2013). Terdapat 18 protein HDAC yang telah dikarakterisasi berdasarkan struktur dan fungsi biologisnya, yang diklasifikasikan ke dalam empat kelompok. Kelas I meliputi HDAC1, HDAC2, HDAC3 dan HDAC4. Kelas II meliputi HDAC4, HDAC 5, HDAC 6, HDAC7, HDAC9 dan HDAC10. Kelas III meliputi sirtulin 1-7 dan kelas IV meliputi HDAC11 (H. J. Kim & Bae, 2011). Disregulasi protein HDAC melalui mutasi dan ekspresi abnormal gen berkontribusi dalam tumorigenesis dan perkembangan tumor termasuk salah satunya adalah kanker payudara (Ren et al., 2021). Penghambatan proses deasetilasi yang dilakukan oleh protein HDAC menjadi pendekatan yang menarik untuk dilakukan sebagai terapi kanker payudara. Inhibitor HDAC akan meningkatkan kerja protein HATs untuk melakukan asetilasi histon yang mengarah pada pembukaan struktur kromatin dan meningkatkan aksesibilitas DNA yang berpengaruh pada ekspresi gen, regulasi siklus sel, apoptosis dan perbaikan DNA yang terganggu dalam sel kanker (Højfeldt et al., 2013).

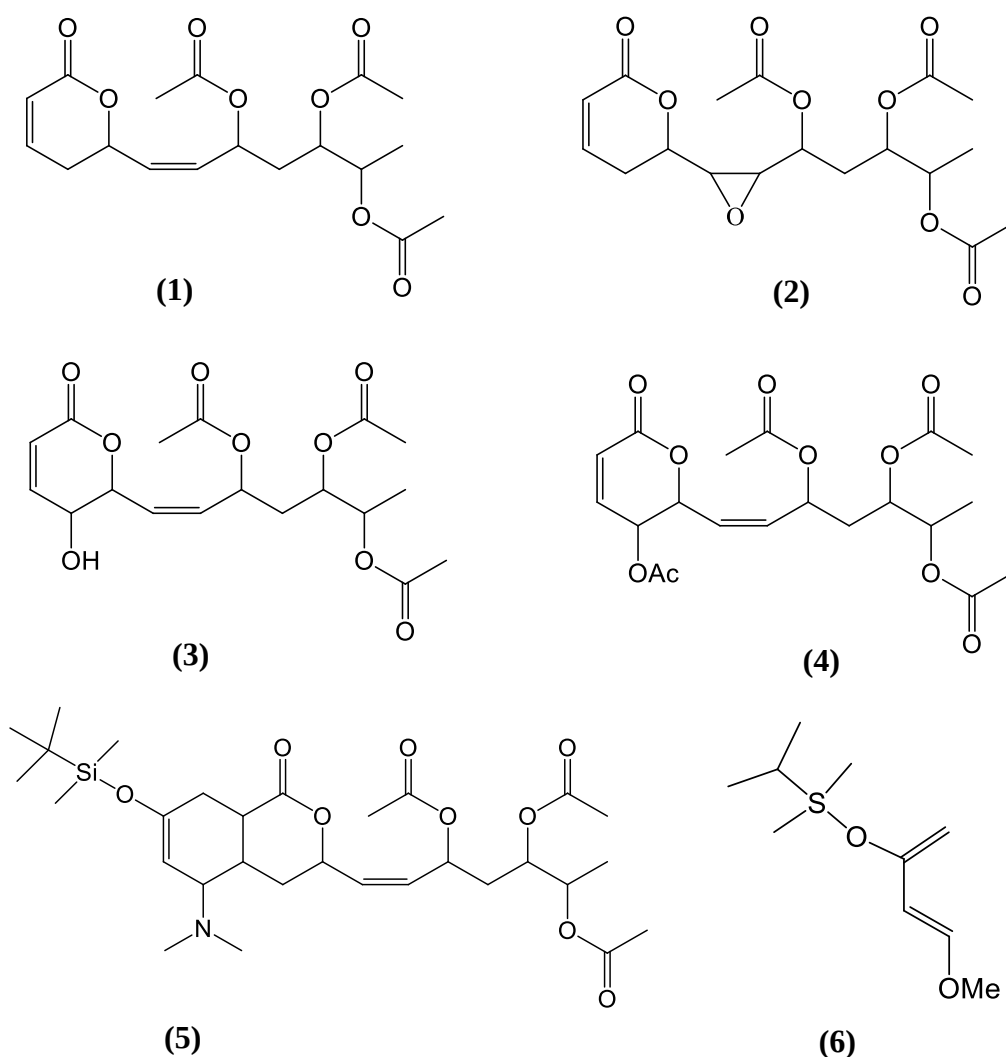


Gambar I.1. Struktur senyawa Inhibitor HDAC

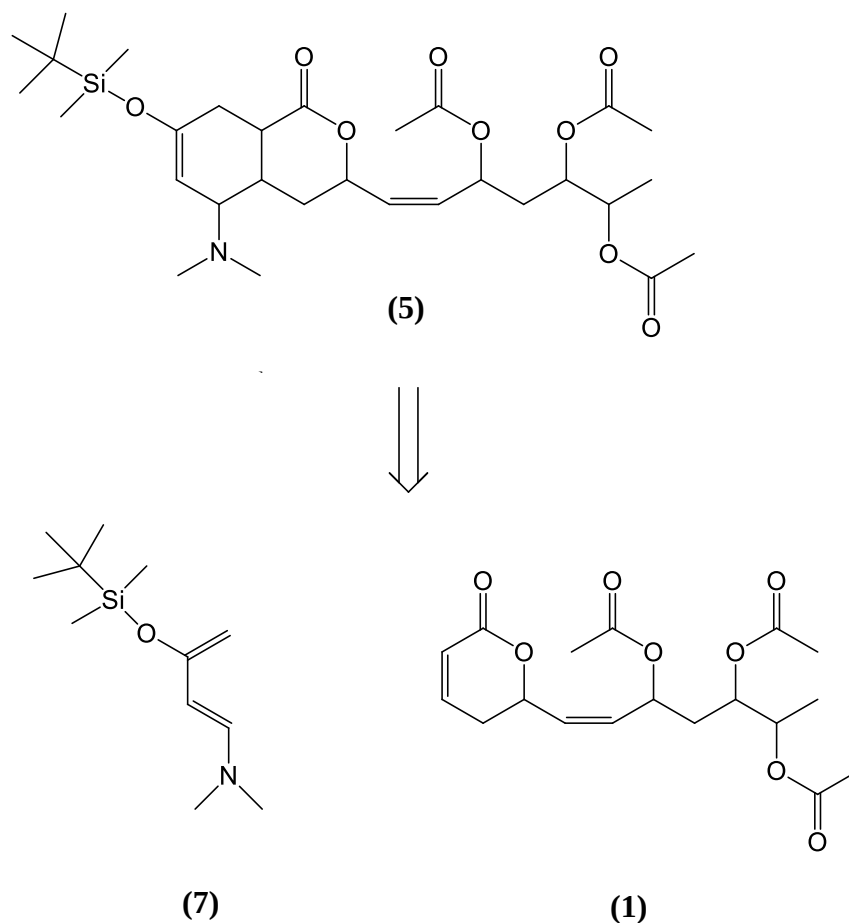
Inhibitor HDAC dikelompokkan menjadi 5 jenis, berdasarkan struktur kimianya yaitu, turunan asam hidroksamat, tetrapeptida siklik, benzamida, elektrofilik keton dan asam karboksilat. Farmakofor dari senyawa inhibitor HDAC terdiri dari tiga bagian penting yaitu gugus pengikat zink, yang mengoordinasi pengikatan ion Zn^{2+} di situs aktif protein HDAC, gugus hidrofobik dan *surface recognition area* (Gambar 1.1). Ion Zn^{2+} memainkan peran penting dalam aktivitas enzimatik protein HDAC dengan cara berikatan dengan residu asam amino seperti histidin, aspartat dan glutamat di situs aktif HDAC membentuk kompleks khelat yang stabil (Yoon & Eom, 2016). Hingga kini, inhibitor protein HDAC yang umum digunakan bersifat *non*-spesifik sehingga mampu menghambat semua jenis isoform HDAC dan menyebabkan efek samping berupa kelelahan, mual dan muntah (Kumboonma et al., 2019). Modifikasi situs aktif HDAC pada kofaktor Zn^{2+} dan residu asam amino histidin menjadi pendekatan yang menarik dalam pengembangan senyawa inhibitor HDAC.

Tumbuhan *Hyptis pectinata* (L.) Poit, dari genus *hyptis* diketahui mengandung senyawa hiptolida (**1**) yang memiliki aktivitas antikanker payudara MCF-7 (Suzery et al., 2020) dan MDA-MB-231 (Santana et al., 2020) dengan IC_{50} masing-masing 76,76 $\mu\text{g/mL}$ dan $5,6 \pm 0,4 \mu\text{g/mL}$, serta aktivitasnya sebagai antiplasmodial (Suzery et al., 2021). Barbosa et al., (2012) melaporkan bahwa ekstrak *Hyptis pectinata* (L.) Poit sensitif terhadap penghambatan sel kanker kolon (HCT-8) dan kanker glioblastoma (SF-295). Turunan hiptolida (**1**) berupa epoksihiptolida (**2**) merupakan senyawa hasil reaksi epoksidasi hiptolida dan oksidator *meta-chloroperoxybenzoic acid* (m-CPBA) yang dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri (Cahyono et al., 2020). Penggantian gugus hidrogen pada cincin lakton dengan gugus hidroksi yang dijumpai pada senyawa *pectinolide J* (**3**) dan gugus asetat pada senyawa *pectinolide E* (**4**) dilaporkan memiliki aktivitas anti kanker payudara MDA-MB-231 dengan nilai IC_{50} masing-masing $15,2 \pm 1,1 \mu\text{g/mL}$ dan $28,5 \pm 1,8 \mu\text{g/mL}$ (Santana et al., 2020). Senyawa Hiptolida dengan gugus α,β -Unsaturated δ -Lacton, Epoksihiptolida (**2**) dengan gugus epoksidanya yang berperan sebagai gugus penarik elektron diharapkan akan berikatan dengan residu asam amino histidin pada situs katalitik protein HDAC, serta Sintesis senyawa

hiptolida dengan substituen 1-amine-3-siloxy-1,3-butadien (7) menghasilkan senyawa turunan hiptolida baru yang tersubstitusi nitrogen melalui reaksi Diels Alder diharapkan mampu berikatan dengan ion Zn^{2+} dan meningkatkan aktivitasnya sebagai senyawa antikanker (Kozmin et al., 2002). Struktur senyawa hiptolida (1) dan turunannya sebagaimana dapat dilihat pada Gambar 1.2. Pendekatan hasil sintesis dilakukan menggunakan analisa retrosintesis sebagaimana terlihat pada Gambar 1.3. Hasil tersebut selanjutnya dianalisa aktivitasnya sebagai senyawa antikanker BCSCs dan inhibitor HDAC secara *in vitro* dan *in silico*.



Gambar 1.2. Struktur senyawa (1) Hiptolida (2) Epoksihiptolida (3) Pectinolide J (4) Pectinolide E (5) Senyawa hasil sintesis, (6) 1-metoksi 3-siloxy diena



Gambar I.3. Analisis retrosintesis senyawa target (5) menggunakan 1-amino-3-siloxy-1,3-butadien (7)

1.2. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut,

- Bagaimana metode sintesis senyawa turunan hiptolida *N,N*-dimetilsiklohexylenamine-hiptolida (5), menggunakan reaksi Diels Alder dengan prekursor 1-amino-3-siloxy-1,3-butadiena (7)?
- Bagaimana aktivitas sitotoksitas senyawa hasil sintesis *N,N*-dimetilsiklohexylenamine-hiptolida (5), ditinjau dari metode *in vitro* dan *in silico* dibandingkan dengan senyawa hiptolida (1)?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut,

- a. Mensintesis senyawa turunan hiptolida menggunakan prekursor 1-amino-3-siloxy-1,3-butadiena (**7**)
- b. Menganalisis potensi senyawa Hiptolida (**1**) dan turunan hiptolida hasil sintesis *N,N*-dimetilsiklohexylenamine-hiptolida (**5**), sebagai senyawa anticancer melalui metode *in vitro*
- c. Menganalisis potensi senyawa Hiptolida (**1**) dan turunan hiptolida hasil sintesis *N,N*-dimetilsiklohexylenamine-hiptolida (**5**), sebagai inhibitor HDAC melalui metode *In Silico*

1.4. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan mampu memberikan informasi mengenai struktur senyawa hasil sintesis *N,N*-dimetilsiklohexylenamine-hiptolida (**5**), dan aktivitasnya sebagai antikanker menggunakan metode *in vitro* dan *in silico*.