

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker adalah salah satu penyakit penyebab kematian tertinggi pada manusia di dunia yang disebabkan karena adanya pertumbuhan sel abnormal dalam tubuh yang tidak terkendali dan sangat cepat. Kanker payudara (*Carcinoma mammae*) atau dalam bahasa Inggris umum disebut dengan *breast cancer* adalah penyakit kanker yang disebabkan oleh tumbuhnya tumor ganas di jaringan payudara dan umumnya terjadi pada wanita (Smolarz *et al.*, 2022). Berdasarkan data *Global Cancer Statistic* (GLOBOCAN) yang dirilis oleh *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2022, secara global tercatat lebih dari 2,3 juta kasus baru kanker payudara yang menyerang wanita dengan angka kematian mencapai 665.684 jiwa (Bray *et al.*, 2024).

Kanker payudara dapat dikategorikan ke dalam 4 sub tipe utama yaitu luminal A, luminal B, HER2 positif (HER2+), dan *triple negative breast cancer* (TNBC). Klasifikasi tersebut didasarkan pada perbedaan molekulernya yang berupa ekspresi reseptor hormon estrogen (ER), progesteron (PR), dan *human epidermal growth factor 2* (HER2) (Nurmayeni dan Windarti, 2022). Sub tipe luminal A memiliki ekspresi reseptor estrogen dan progesteron positif. Sub tipe luminal B positif memiliki ekspresi dari ketiga jenis reseptor hormon tersebut. Kanker payudara dengan sub tipe HER2+ hanya memiliki ekspresi positif reseptor hormon faktor pertumbuhan epidermal manusia (HER2). Sementara itu, pada sub tipe TNBC memiliki

ekspresi negatif dari ketiga jenis reseptor hormon tersebut (Mohammed, 2021).

Triple negative breast cancer (TNBC) adalah jenis kanker payudara dengan sel tumor yang tidak mengekspresikan *estrogen receptor* (ER), *progesterone receptor* (PR), dan *human epidermal growth factor receptor2* (HER2). TNBC tergolong sebagai kanker payudara yang invasif, heterogen, dan memiliki kemampuan metastasis ke organ tubuh lain (Fasril *et al.*, 2023). TNBC dapat bermetastasis ke sistem saraf pusat serta organ-organ dalam seperti hati, tulang, dan paru-paru (Obidiro *et al.*, 2023). Penderita TNBC memiliki prognosis yang lebih buruk dibandingkan dengan subtype lainnya. Hal tersebut dikarenakan fenotip tumor yang agresif dan hanya merespon secara parsial terhadap kemoterapi sehingga masa bertahan hidupnya relatif lebih pendek (Cetin dan Topcul, 2014).

TNBC sulit diobati dengan terapi berbasis hormon karena tidak adanya ER, PR, dan HER2 pada sel tumor (Wahba dan El-Hadaad, 2015). Pengobatan untuk pasien TNBC tergantung pada subtype molekuler dan stadium kankernya (Obidiro *et al.*, 2023). Beberapa macam pengobatan TNBC untuk saat ini masih terbatas pada operasi, kemoterapi, dan radioterapi (Li *et al.*, 2022). Kemoterapi masih menjadi terapi yang paling umum untuk TNBC. Akan tetapi, kemampuan metastasis dan prognosis yang buruk pada TNBC menyebabkan kemoterapi kurang efektif sehingga rentan terhadap kekambuhan (Newton *et al.*, 2022). Oleh sebab itu, diperlukan adanya metode terapi bertarget yang melibatkan interaksi senyawa aktif dengan target berupa

molekul protein yang terlibat dalam TNBC (Li *et al.*, 2022). Beberapa protein yang berpotensi dapat dijadikan sebagai target untuk pengobatan TNBC diantaranya adalah *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dan *epidermal growth factor receptor* (EGFR) (Newton *et al.*, 2022).

Vascular endothelial growth factor (VEGF) adalah keluarga protein (VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, EG-VEGF, dan *Phosphatidylinositol-glycan biosynthesis class F* (PlGF)) beserta reseptornya merupakan faktor penting dalam patogenesis kanker payudara (Brogowska *et al.*, 2023). VEGF adalah regulator utama pada angiogenesis abnormal sel kanker (Mayasari dan Wratsangka, 2020). Angiogenesis merupakan proses tumbuhnya pembuluh darah baru yang terjadi secara alami di dalam tubuh. Angiogenesis dapat terjadi baik dalam kondisi sehat maupun sakit (angiogenesis abnormal) (Frisca *et al.*, 2009). VEGF berperan dalam merangsang pertumbuhan pembuluh darah pada sel yang kekurangan oksigen, sebagai respons terhadap hipoksia dan aktivasi onkogen. VEGF bekerja pada sel endotel dengan menginduksi aktivator, menghambat plasminogen, serta memengaruhi ekspresi berbagai enzim seperti reseptor urokinase, matriks metalloproteinase, kolagenase, dan gelatinase A, sekaligus menurunkan inhibitor metalloproteinase 1 dan 2 (Mayasari dan Wratsangka, 2020).

Epidermal growth factor receptor (EGFR) adalah kelompok protein (ErbB1/EGFR, ErbB2/Her2, ErbB3 dan ErbB4) yang pertama kali ditemukan dari keluarga reseptor tirosin kinase *erythroblastic leukemia viral oncogene*

(ErbB) (Ali dan Wendt, 2017). EGFR terdiri dari reseptor transmembran dengan domain pengikatan ligan dan tirosin kinase. Aktivasi EGFR memicu jalur pensinyalan seperti PI3 kinase dan Ras-Raf-MAPK, yang mengontrol proliferasi, adhesi, motilitas, serta melindungi dari apoptosis. Secara fisiologis, EGFR berperan dalam invasi dan angiogenesis. Aktivasi EGFR dapat menyebabkan hilangnya polarisasi sel epitel payudara, mendorong invasi, dan berkontribusi pada keganasan. Disregulasi EGFR melalui ekspresi berlebih atau aktivasi konstitutif mempercepat angiogenesis, metastasis, dan dikaitkan dengan prognosis buruk pada berbagai kanker (Masuda *et al.*, 2012).

Bahan alam menyediakan sumber yang berkelanjutan dengan khasiat yang besar untuk mengobati dan mengatasi beberapa gangguan dan penyakit fatal, termasuk kanker (Asma *et al.*, 2022). Bahan alami berupa senyawa aktif dan turunannya memainkan peran penting dalam upaya penemuan obat kanker melalui pendekatan metabolik dengan memodulasi lingkungan mikro kanker dan jalur pensinyalan yang berbeda. Senyawa-senyawa aktif ini efektif terhadap beberapa jalur pensinyalan, terutama jalur kematian sel (apoptosis dan autofag) dan jalur perkembangan embrionik. Banyak obat terapeutik yang saat ini digunakan berasal dari sumber daya alam seperti alkaloid, takson, dan flavonoid. Pengobatan kanker dengan senyawa aktif alami termasuk fitokimia, mineral, dan vitamin, telah menunjukkan hasil yang menjanjikan terhadap berbagai tumor ganas (Hashem *et al.*, 2022). Bahan alami memiliki aktivitas antikanker karena mengandung antioksidan alami seperti flavonoid,

lignan, flavon, kumarin, isoflavon, antosianin, isokatekin, dan katekin yang bertindak sebagai agen pereduksi, pemadam oksigen tunggal, serta pembasmi radikal bebas. Selain itu, bahan alami dapat dengan mudah mengurangi dan menghilangkan efek samping toksik dari radiasi dan kemoterapi (Shaik *et al.*, 2022).

Dalam beberapa tahun terakhir, *lichen* atau lumut kerak semakin menarik perhatian sebagai sumber senyawa bioaktif untuk pengobatan. Organisme ini merupakan hasil simbiosis antara fungi dan alga atau *cyanobacteria* yang mampu menghasilkan berbagai metabolit bioaktif terutama senyawa fenolik seperti depsida, depsidon, dan dibenzofuran. Beberapa metabolit telah diidentifikasi dengan aktivitas biologis termasuk antiinflamasi, antioksidan, sitotoksik, dan antiproliferasi (Suh *et al.*, 2017). *Lichen* menghasilkan berbagai senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas biologis sebagai antioksidan, antimikroba, antiinflamasi, antimutagenik, dan antitumor atau antikanker (Huynh *et al.*, 2022). Genus *Ramalina* merupakan *fruticose lichen* atau lumut kerak yang berbentuk seperti semak. Beberapa penelitian terkait dengan eksplorasi *lichen* genus *Ramalina* sebagai agen antikanker telah dilakukan. Pada studi yang dilakukan oleh Moreira *et al.* (2015) menunjukkan bahwa *lichen Ramalina* menghasilkan molekul bioaktif sebagai model untuk pengembangan obat yang beberapa ekstraknya memberikan hasil signifikan dalam uji biologis. Suh *et al.* (2017) meneliti efek ramalin, metabolit sekunder dari *lichen* Antartika *Ramalina terebrata* terhadap sel kanker kolorektal. Hasilnya

menunjukkan bahwa ramalin memiliki aktivitas antikanker yang bergantung pada konsentrasi, mampu menekan proliferasi dan menginduksi apoptosis sel HCT116. Studi lain juga mengkaji kapasitas antioksidan, profil fenolik, dan efek sitotoksik dari ekstrak lumut, di mana beberapa di antaranya menunjukkan aktivitas sitotoksik tinggi terhadap sel kanker.

Dalam rangka mengidentifikasi senyawa aktif spesifik yang bertanggung jawab terhadap aktivitas biologis *Ramalina* sp., analisis *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS) terhadap ekstrak *Ramalina* sp. yang dilakukan oleh Dasilva pada tahun 2024 menunjukkan bahwa asam benzoat merupakan senyawa dengan kelimpahan relatif tertinggi di antara seluruh metabolit yang terdeteksi. Tingginya kelimpahan suatu senyawa dalam profil GC-MS mencerminkan dominansinya dalam keseluruhan komposisi metabolit, sehingga senyawa ini berpeluang paling besar memberikan kontribusi terhadap aktivitas biologis yang teramati pada *Ramalina* sp. secara keseluruhan. Asam benzoat ($C_7H_6O_2$) merupakan senyawa fenolik yang diproduksi melalui jalur biosintesis shikimat pada organisme *lichen* dan hadir dalam konteks fitokimia yang kaya akan metabolit bioaktif pendamping seperti asam usnat dan ramalin. Asam benzoat dapat menekan pertumbuhan sel kanker melalui angiogenesis dan penghambatan invasi, serta induksi apoptosis (Ibrahim *et al.*, 2023).

Pengujian interaksi penghambatan protein yang terlibat dalam TNBC oleh asam benzoat sebagai agen antikanker dapat dilakukan dengan metode *molecular docking*. *Molecular docking* atau penambatan molekuler

merupakan suatu metode *in silico* yang umum digunakan dalam uji penemuan obat. Sebagai pendekatan dalam desain obat berbasis komputer, metode ini lebih efisien dalam hal biaya dan waktu dibandingkan teknik konvensional dalam penelitian kanker (Arjmand *et al.*, 2022). *Molecular docking* menggunakan algoritme matematis untuk mengevaluasi *binding-conformation* yang optimal antara obat dan molekul target. Pendekatan ini berbasis struktur molekul, memungkinkan hasil berupa pemodelan dan prediksi interaksi molekuler serta analisis proses biokimia secara lebih efisien. Metode ini juga mampu menganalisis jenis variabilitas perilaku molekul untuk molekul-molekul yang terletak di tempat pengikatan protein yang ditargetkan (Arjmand *et al.*, 2022). Pada penelitian ini dilakukan uji *in silico* dengan metode *molecular docking* untuk menentukan interaksi penghambatan VEGF, dan EGFR sebagai protein target oleh senyawa aktif asam benzoat yang diperoleh dari *R. peruviana* dengan tujuan untuk menemukan obat yang berpotensi untuk terapi penyembuhan TNBC.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana interaksi molekuler senyawa asam benzoat dalam menghambat aktivitas protein VEGF-A dan EGFR yang berperan dalam perkembangan TNBC berdasarkan analisis *molecular docking*?
2. Bagaimana profil farmakokinetik senyawa asam benzoat sebagai kandidat inhibitor VEGF-A dan EGFR ditinjau dengan pendekatan *in silico*?
3. Bagaimana tingkat toksisitas senyawa asam benzoat sebagai kandidat obat berdasarkan analisis *in silico*?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengidentifikasi interaksi molekuler antara senyawa asam benzoat dengan protein VEGF-A dan EGFR yang berperan dalam perkembangan TNBC secara *in silico* melalui metode *molecular docking*.
2. Menganalisis profil farmakokinetik senyawa asam benzoat sebagai kandidat inhibitor VEGF-A dan EGFR untuk terapi TNBC ditinjau dengan pendekatan *in silico*.
3. Menganalisis tingkat toksisitas senyawa asam benzoat sebagai kandidat obat berdasarkan analisis *in silico*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teoritis

1. Menambah wawasan dalam bidang farmakologi molekuler terkait mekanisme interaksi asam benzoat sebagai inhibitor protein VEGF-A dan EGFR yang berperan dalam perkembangan sel kanker TNBC.
2. Memberikan kontribusi dalam pengembangan metode komputasional *molecular docking* untuk memprediksi efektivitas senyawa aktif sebagai inhibitor protein kanker.

1.4.2 Manfaat Praktis

1. Memberikan informasi tentang potensi asam benzoat sebagai kandidat obat antikanker, yang dapat menjadi dasar penelitian lebih lanjut, baik *in vitro* maupun *in vivo*.

2. Membantu dalam pengembangan terapi kombinasi alternatif yang mampu meningkatkan efektivitas pengobatan dengan menargetkan lebih dari satu jalur molekuler dan berpotensi untuk mengatasi resistensi obat serta kekambuhan pada pasien TNBC.