

# I.

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Kanker payudara (*carcinoma mammae*) merupakan suatu kondisi yang terjadi akibat adanya sel-sel abnormal pada payudara yang mengalami pertumbuhan terus menerus dan tidak terkendali. Akibatnya, muncul benjolan (tumor) pada payudara yang umumnya terletak di kuadran atas luar payudara, area dengan jaringan kelenjar terbanyak. Proliferasi abnormal ini dapat menyebar ke jaringan sekitarnya dan menyebar ke bagian lain tubuh melalui rute limfatik atau hematogenik (Waks & Winer, 2019). Secara umum, kondisi ini disebabkan oleh mutasi genetik, radikal bebas, paparan radiasi, zat kimia atau biologis tertentu dengan risiko yang dapat meningkat oleh faktor usia, jenis kelamin, riwayat keluarga, pengaruh hormon, obesitas, kebiasaan merokok, dan konsumsi alkohol. (Ismail, 2025).

Kanker payudara termasuk jenis tumor ganas yang memiliki prevalensi tinggi. Berdasarkan Data *Global Burden of Cancer*, pada tahun 2022 terdapat 2.296.840 kasus baru kanker payudara diantara wanita dan 666.103 kematian akibat kanker payudara di seluruh dunia, menempati urutan kedua sebagai jumlah kasus kanker sekaligus menjadi penyebab kematian terbesar akibat kanker di dunia setiap tahunnya (Bray *et al.*, 2024). Di Indonesia, kanker payudara menduduki peringkat

pertama sebagai jenis kanker dengan angka kasus baru tertinggi, yaitu sekitar 66.271 kasus dan diperkirakan akan terus meningkat sebesar 63% pada tahun 2025 hingga 2040 (Kemenkes, 2024). Statistik tersebut menunjukkan kebutuhan mendesak akan pentingnya kesadaran deteksi dini dan akses terhadap pilihan pengobatan yang efektif.

Kemajuan dalam deteksi dini dan terapi modern, seperti terapi obat dengan doxorubicin atau tamoxifen, mastektomi, BCT (*Breast Conserving Therapy*), radioterapi, dan kemoterapi telah meningkatkan prognosis dan angka harapan hidup pasien. Namun disisi lain tantangan dalam penanganan kanker payudara masih tetap signifikan (Othman *et al.*, 2025). Hal ini didasari oleh efek samping kemoterapi dan terapi obat yang ditimbulkan pada pasien kanker payudara seperti rambut rontok, perubahan warna kuku, perubahan rasa, penurunan nafsu makan, kelainan neurologis (Mahardika *et al.*, 2024), ekstrasvasi obat, reaksi alergi, reaksi gastrointestinal, anemia, leukopenia, dan trombositopenia (Nur *et al.*, 2024). Sekitar 40% pasien kanker payudara juga dilaporkan mengalami kekambuhan di mana 60-70% -nya dipengaruhi oleh metastasis pasca terapi. Tingginya angka tersebut mengindikasikan bahwa terapi yang diberikan belum sepenuhnya efektif atau adanya kemungkinan resistensi terapi (Eveline *et al.*, 2017).

Saat ini, senyawa alami telah menarik perhatian yang cukup besar sebagai kandidat potensial dalam upaya mengembangkan alternatif terapi kanker yang lebih efektif. Sekitar 60% obat yang telah

disetujui berasal dari bahan alami (Rajesh *et al.*, 2020). Hal ini karena senyawa alami memiliki efek samping dan toksisitas yang relatif rendah, variasi struktur kimia yang luas, serta potensi untuk memengaruhi berbagai jalur molekuler yang terlibat dalam kanker (Amin *et al.*, 2024). Seiring dengan perkembangan penemuan agen terapi kanker alternatif, senyawa alami dari laut menjadi fokus utama beberapa tahun terakhir. Salah satu sumber alam hayati potensial yang berasal dari laut adalah *Caulerpa* sp.

Rumput laut khususnya dari genus *Caulerpa* merupakan makroalga hijau yang tersebar luas di perairan tropis Indonesia dan telah diidentifikasi sebagai salah satu sumber senyawa bioaktif laut yang cukup menjanjikan dalam pengembangan agen antikanker. *Caulerpa* sp. dikenal mengandung senyawa bioaktif seperti polifenol, alkaloid, dan polisakarida (Yuliani *et al.*, 2023). Polifenol dikategorikan ke dalam subkelas fenolik, flavonoid, stilbene, dan lignan yang telah terbukti menunjukkan sifat antioksidan, antimikroba, antidiabetik, antiinflamasi, dan antikanker dalam studi *in vitro* dan *in vivo*. Alkaloid juga memiliki kemampuan sebagai antikanker, termasuk induksi apoptosis, regulasi autofagi, penghentian siklus sel, penghambatan angiogenesis, dan gangguan jalur pensinyalan onkogenik (Chidananda *et al.*, 2025). Pada penelitian Zhong *et al.* (2020), *screening* dan karakterisasi profil metabolit ekstrak *Caulerpa* sp. dengan LC-HRMS menghasilkan 54 senyawa golongan fenolik, meliputi 22 asam fenolik, 17 flavonoid, 11

polifenol lainnya, 4 lignan, serta senyawa terpenoid, bromofenol, florotanin, dan alkaloid. Keberadaannya yang melimpah serta kandungan metabolit sekundernya yang beragam menjadikan *Caulerpa* sp. sebagai kandidat yang relevan dan strategis untuk dieksplorasi lebih lanjut.

Kandungan metabolit bioaktif *Caulerpa* sp. berpotensi ditingkatkan melalui proses fermentasi menggunakan bakteri asam laktat (BAL) karena memiliki kapasitas enzimatik luas dalam degradasi dan transformasi senyawa fitokimia. Fermentasi dapat diterapkan pada substrat yang mengandung komponen karbohidrat, protein, atau senyawa fenolik terikat yang dapat dimetabolisme oleh BAL, sebagaimana yang terdapat pada *Caulerpa* sp., yang kaya akan polisakarida struktural dan senyawa fenolik terikat pada dinding selnya (Filannino *et al.*, 2018). Asam laktat dan enzim hidrolitik yang dihasilkan BAL selama fermentasi mampu mendegradasi ikatan ester dan glikosida yang mengikat senyawa fenolik pada matriks dinding sel alga sehingga melepaskan komponen fenolik bebas dan meningkatkan ketersediaan biologisnya secara keseluruhan (Pérez-Alva *et al.*, 2022). Perbedaan profil metabolit antara ekstrak *Caulerpa* sp. tanpa fermentasi dan ekstrak fermentasi telah dilaporkan oleh Moukamnerd *et al.* (2025), bahwa *Caulerpa lentillifera* yang difermentasi oleh *Lactobacillus plantarum* dengan suplementasi menunjukkan peningkatan aktivitas antioksidan dan kandungan senyawa bioaktif yang lebih signifikan

dibandingkan ekstrak tanpa fermentasi, dari  $1136,88 \pm 4,88 \mu\text{g TE/mL}$  menjadi  $1236,02 \pm 5,54 \mu\text{g TE/mL}$ .

Dalam upaya eksplorasi potensi antikanker pada *Caulerpa* sp. diperlukan evaluasi aktivitas antioksidan, salah satu parameter penting dalam penilaian potensi suatu ekstrak sebagai kandidat antikanker, mengingat peran stres oksidatif dalam karsinogenesis. Akumulasi *reactive oxygen species* (ROS) secara berlebihan dalam sel terbukti memicu kerusakan DNA, aktivasi onkogen, serta progresi sel kanker payudara melalui gangguan keseimbangan redoks seluler (Chaniago, 2023). DPPH (2,2 Difenil-1-Pikrilhidrazil) merupakan metode paling umum digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan dari suatu ekstrak atau sampel yang didasarkan pada kemampuan senyawa antioksidan dalam mendonorkan atom hidrogen atau elektron untuk menetralkan radikal bebas DPPH yang stabil, ditandai dengan perubahan warna larutan dari ungu menjadi kuning yang dapat diukur secara spektrofotometri. Hasil pengujian dinyatakan dalam nilai  $\text{IC}_{50}$ , yaitu konsentrasi ekstrak yang dibutuhkan untuk menghambat 50% aktivitas radikal DPPH (Hartanto & Sutriningsih, 2018). Sebagaimana dilaporkan oleh Ambarsari *et al.* (2018), pengukuran aktivitas antioksidan dengan DPPH pada *Ulva lactuca* yang difermentasi oleh *L. plantarum* menghasilkan nilai  $\text{IC}_{50}$  1375,12 ppm, sedangkan ekstrak maserasi (etanol 4921,79 ppm, etil asetat 9770,285 ppm, dan lainnya

11213,076 ppm). Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  menunjukkan semakin tinggi aktivitas antioksidan suatu sampel.

Untuk mendukung pengembangan dan pengujian terapi sel kanker payudara, T47D dipilih sebagai model penelitian *in vitro*. Sel lini T47D adalah sel kanker payudara manusia yang bersifat estrogen/progesterone receptor-positive, berasal dari cairan pleural, mengekspresikan bentuk mutan protein p53, dan sangat sensitif terhadap efek stimulasi estradiol (Mahardika *et al.*, 2016). Sel ini diisolasi dari karsinoma duktal payudara dan secara luas digunakan untuk mengevaluasi potensi sitotoksik dan apoptosis senyawa bioaktif yang menargetkan jalur regulasi estrogen (Rangkuti *et al.*, 2019).

Uji sitotoksitas *in vitro* dengan metode MTT telah banyak digunakan untuk menilai viabilitas dan proliferasi sel kanker setelah perlakuan dengan senyawa bioaktif (Cao *et al.*, 2018). Prinsipnya, MTT akan bereaksi dengan enzim mitokondria sel hidup menghasilkan kristal formazan yang dapat diukur secara spektrofotometri sehingga memberikan gambaran kuantitatif tingkat kematian sel. Metode ini dinilai sensitif, sederhana, dan efisien untuk mengevaluasi efek penghambatan pertumbuhan sel kanker, termasuk pada sel T47D (Sandrawati *et al.*, 2019). Beberapa metabolit sekunder menunjukkan aktivitas sitotoksik terhadap lini sel tumor dengan nilai  $IC_{50} \leq 15 \mu\text{m}$ . Senyawa yang dilaporkan sebagian besar termasuk dalam golongan terpenoid, diikuti oleh golongan bromofenol, florotanin, dan alkaloid.

Identifikasi senyawa aktif dalam suatu ekstrak memerlukan metode *screening* metabolit yang komprehensif dan akurat. Hal ini penting karena ekstrak bahan alam merupakan campuran kompleks sehingga tanpa pemetaan profil metabolit yang sistematis, sulit menentukan senyawa spesifik yang bertanggung jawab terhadap efek antikanker yang teramati. Lebih dari itu, data profil metabolit menjadi syarat atau dasar dalam pendekatan *in silico*, senyawa yang teridentifikasi melalui *screening* selanjutnya dapat dievaluasi interaksinya dengan target molekuler melalui *molecular docking*. *Screening* juga berperan dalam menginterpretasikan hasil uji biologis seperti DPPH dan MTT secara lebih bermakna, aktivitas antioksidan maupun sitotoksik yang terdeteksi dapat dikaitkan dengan golongan senyawa tertentu yang teridentifikasi sehingga kesimpulan yang dihasilkan memiliki dasar yang lebih kuat. *Liquid Chromatography–High Resolution Mass Spectrometry* (LC-HRMS) merupakan suatu metode yang mampu mengidentifikasi senyawa metabolit pada suatu sampel melalui pemisahan kromatografi cair yang diikuti dengan deteksi spektrometri massa resolusi tinggi (Maphari *et al.*, 2024). LC-HRMS dinilai sebagai pendekatan yang tepat dan diperlukan untuk mengetahui profil metabolit ekstrak fermentasi *Caulerpa* sp. secara menyeluruh sebelum dilakukan evaluasi aktivitas antikankernya.

Keterbatasan penelitian terdahulu mencakup minimnya studi yang mengevaluasi potensi ekstrak fermentasi *Caulerpa* sp. dalam

menginduksi sitotoksisitas terhadap sel T47D, sekaligus mengintegrasikannya dengan pendekatan *in silico* untuk memprediksi interaksi senyawa bioaktif terhadap target molekuler spesifik. Senyawa-senyawa bioaktif yang teridentifikasi melalui LC-HRMS selanjutnya dievaluasi interaksinya dengan estrogen receptor alpha (ER- $\alpha$ ) melalui simulasi *molecular docking* (penambatan) sebagai target molekuler utama kanker payudara subtipe luminal A. ER- $\alpha$  dipilih sebagai target *in silico* karena merupakan faktor transkripsi kunci yang mengatur proliferasi sel kanker payudara ER-positif dan telah divalidasi secara luas sebagai target terapeutik utama dalam studi *molecular docking* antikanker payudara. Penambatan terhadap ER- $\alpha$  memungkinkan untuk mengeksplorasi dan memprediksi interaksi antara ligan dengan protein target, mengidentifikasi kemungkinan mode pengikatan yang terbentuk, serta memperkirakan kekuatan afinitas ikatan antara keduanya (Prasetio *et al.*, 2021). Pendekatan serupa telah dilaporkan oleh Bahrin (2024) yang menunjukkan bahwa senyawa terpenoid dari ekstrak makroalga *Gracilaria salicornia* dan *Bornetella nitida* memiliki afinitas ikatan yang baik terhadap ER- $\alpha$ .

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini dirancang dengan melibatkan pendekatan metodologis yang saling melengkapi, yaitu uji antioksidan DPPH, uji sitotoksik MTT, *screening* metabolit dengan LC-HRMS, dan *molecular docking* terhadap ER- $\alpha$ . Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi potensi antikanker ekstrak fermentasi

*Caulerpa* sp. oleh *L. plantarum* melalui evaluasi aktivitas antioksidan dan sitotoksiknya terhadap sel lini kanker payudara T47D secara *in vitro*, *screening* profil metabolitnya, serta prediksi interaksi senyawa bioaktif utama dengan ER- $\alpha$  melalui pendekatan *in silico*. Penelitian mengenai kombinasi pendekatan tersebut pada ekstrak fermentasi *Caulerpa* sp. masih sangat terbatas dan belum dilaporkan secara komprehensif dalam literatur yang ada sehingga diharapkan dapat mengisi celah atau *gap* penelitian dalam eksplorasi makroalga laut di Indonesia sebagai sumber agen antikanker payudara, sekaligus mendorong pemanfaatan makroalga sebagai kandidat terapi alternatif yang lebih selektif, tepat sasaran, dan berkelanjutan.

## 1.2. Rumusan Masalah

1. Bagaimana aktivitas antioksidan dan efek sitotoksik ekstrak fermentasi *Caulerpa* sp. terhadap sel lini kanker payudara T47D yang diuji melalui pendekatan *in vitro*?
2. Bagaimana profil metabolit ekstrak fermentasi *Caulerpa* sp. berdasarkan analisis menggunakan LC-HRMS dan korelasinya terhadap hasil uji aktivitas antioksidan dan sitotoksitas?
3. Bagaimana interaksi antara senyawa bioaktif dalam ekstrak fermentasi *Caulerpa* sp. dengan ER- $\alpha$  sebagai biomarker kanker payudara melalui pendekatan *in silico*?

### 1.3. Tujuan Penelitian

1. Mengukur dan mengevaluasi aktivitas antioksidan dan sitotoksik ekstrak fermentasi *Caulerpa* sp. terhadap sel lini kanker payudara T47D secara *in vitro*.
2. Mengidentifikasi profil metabolit ekstrak fermentasi *Caulerpa* sp. melalui analisis LC-HRMS serta menganalisis korelasinya terhadap hasil uji aktivitas antioksidan dan sitotoksitas.
3. Menganalisis interaksi antara senyawa bioaktif dalam ekstrak fermentasi *Caulerpa* sp. dengan ER- $\alpha$  sebagai biomarker kanker payudara dengan pendekatan *in silico* yang dapat digunakan sebagai dasar pengembangan agen antikanker berbasis sumber daya hayati laut.

### 1.4. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai potensi antikanker payudara ekstrak fermentasi *Caulerpa* sp. melalui evaluasi aktivitas antioksidan dan sitotoksiknya pada sel lini kanker payudara T47D, profil metabolitnya yang teridentifikasi melalui LC-HRMS, serta interaksi senyawa metabolit aktifnya dengan ER- $\alpha$  sebagai reseptor kanker payudara sub tipe luminal A. Dengan pendekatan *in vitro* dan *in silico*, penelitian ini diharapkan mendorong pemanfaatan bahan alam dari laut dan metode fermentasi untuk mendapatkan bahan alami sebagai alternatif terapi kanker yang lebih selektif, efisien, dan berkelanjutan. Selain itu, hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi

dasar ilmiah bagi pengembangan riset lanjutan khususnya terkait pengembangan senyawa bioaktif dari sumber hayati laut serta optimasi pemanfaatannya sebagai kandidat agen terapi kanker payudara, khususnya sub tipe luminal A.