

**UJI IKATAN ANTARA KUERSETIN DALAM BENALU MANGGA  
(*Dendrophthoe pentandra*) DENGAN  $\beta$ -TUBULIN III (TUBB3)  
SEBAGAI AGEN KOKEMOTERAPI PACLITAXEL PADA SEL KANKER  
PAYUDARA SECARA *IN SILICO***

**Tugas Akhir**

**Untuk Memperoleh Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum**



Oleh:  
**Amalda Widia Besari**  
**165070107111034**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
MALANG  
2018**



DAFTAR ISI

Halaman

Halaman Judul .....	i
Halaman Pengesahan .....	ii
Pernyataan Keaslian Tulisan .....	iii
Kata Pengantar .....	iv
Abstrak .....	vi
Abstract .....	vii
Daftar Isi .....	viii
Daftar tabel .....	xiv
Daftar gambar .....	xv
Daftar singkatan .....	xvii
 <b>BAB 1. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	5
1.2.1 Rumusan Masalah Umum .....	5
1.2.2 Rumusan Masalah Khusus .....	5
1.3 Tujuan Penelitian .....	6
1.3.1 Tujuan Umum .....	6
1.3.2 Tujuan Khusus .....	6
1.4 Manfaat Penelitian .....	6
1.4.1 Manfaat Akademik .....	6



1.4.2 Manfaat Praktis .....	6
-----------------------------	---

**BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA**

2.1 Kanker .....	7
2.2 Kanker Payudara .....	7
2.2.1 Pengertian Kanker Payudara .....	7
2.2.2 Epidemiologi .....	8
2.2.3 Anatomi Payudara .....	8
2.2.4 Gambaran Histopatologis .....	9
2.2.5 Mekanisme Kanker Payudara .....	10
2.2.6 Klasifikasi Kanker Payudara .....	11
2.2.7 Faktor Risiko Kanker Payudara .....	12
2.2.8 Diagnosis Kanker Payudara .....	13
2.2.9 Skrining Kanker Payudara .....	19
2.2.10 Penatalaksanaan Kanker Payudara .....	25
2.2.11 Prognosis Kanker Payudara .....	31
2.3 Paclitaxel .....	31
2.3.1 Mekanisme Kerja paclitaxel .....	33
2.4 Benalu Mangga .....	34
2.4.1 Klasifikasi Benalu Mangga .....	35
2.4.2 Kandungan Benalu Mangga .....	36
2.5 Kuersetin .....	36
2.5.1 Sifat-Sifat Kuersetin .....	36
2.5.2 Mekanisme Kuersetin .....	37



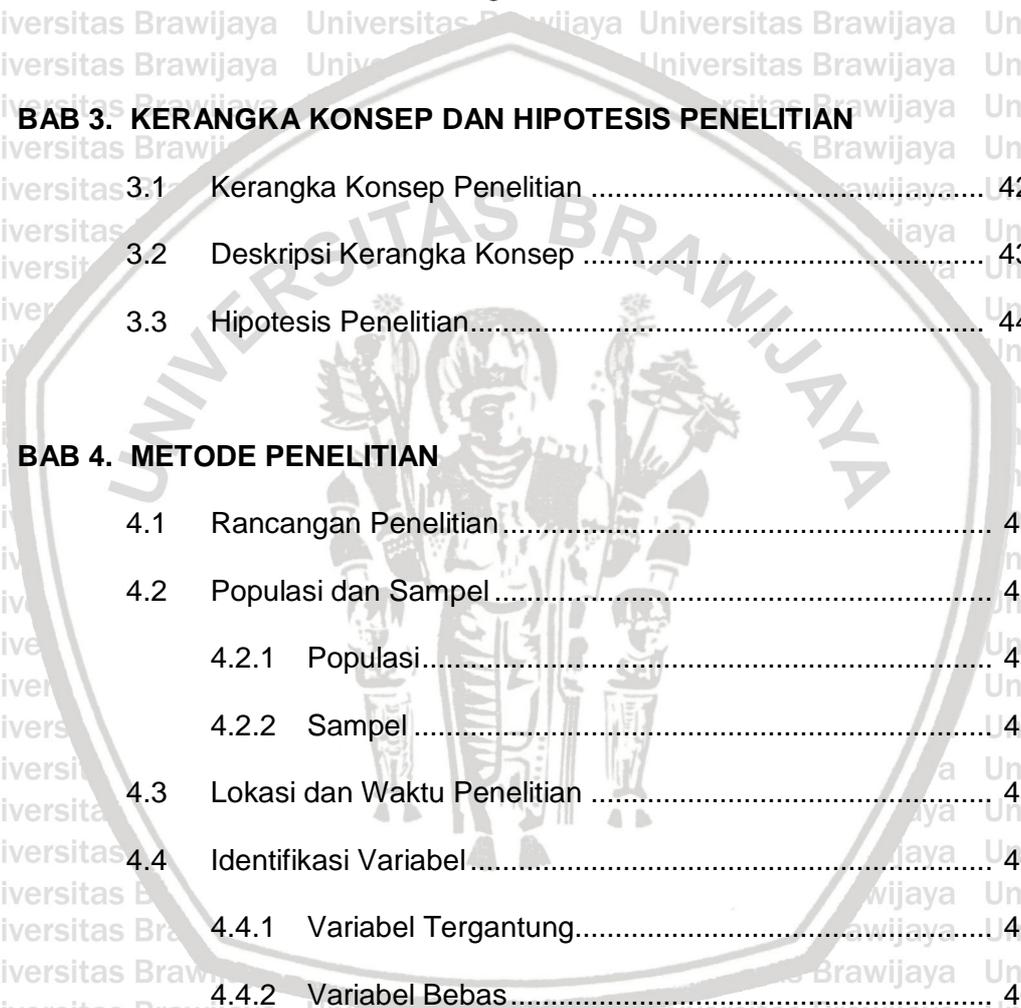
2.5.3 Manfaat Kuersetin .....	37
2.6 Kelas III beta-tubulin .....	38
2.6.1 Mekanisme Kelas III beta-tubulin pada Kanker Payudara .....	39
2.7 Metode Insilico .....	40
2.7.1 Molecular Docking .....	40

**BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN**

3.1 Kerangka Konsep Penelitian .....	42
3.2 Deskripsi Kerangka Konsep .....	43
3.3 Hipotesis Penelitian .....	44

**BAB 4. METODE PENELITIAN**

4.1 Rancangan Penelitian .....	45
4.2 Populasi dan Sampel .....	45
4.2.1 Populasi .....	45
4.2.2 Sampel .....	45
4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian .....	45
4.4 Identifikasi Variabel .....	46
4.4.1 Variabel Tergantung .....	46
4.4.2 Variabel Bebas .....	46
4.5 Defini Operasional .....	46
4.6 Alat dan Bahan Penelitian .....	47
4.6.1 Alat untuk Penelitian .....	47
4.6.2 Bahan untuk Penelitian .....	47
4.7 Prosedur Penelitian .....	48



4.7.1	Pencarian dan Preparasi Data Kuersetin .....	48
4.7.2	Pencarian dan Preparasi Data TUBB3.....	48
4.7.3	Pencarian dan Preparasi Data GTP.....	49
4.7.4	Pencarian dan Preparasi Data Paclitaxel.....	49
4.7.5	Pencarian dan Preparasi Data TUBB1.....	50
4.7.6	Proses <i>Docking</i> TUBB1 dengan Paclitaxel.....	51
4.7.7	Proses <i>Docking</i> TUBB1 dengan GTP.....	53
4.7.8	Proses <i>Docking</i> TUBB3 dengan Kuersetin.....	54
4.7.7	Proses <i>Docking</i> TUBB3 dengan GTP.....	55
4.8	Alur Penelitian.....	57
4.9	Analisis Data.....	57

**BAB 5. HASIL PENELITIAN**

5.1	Hasil <i>Binding Affinity Molecular Docking</i> .....	58
5.1.1	Hasil <i>Binding Affinity</i> Pcaclitaxel dengan TUBB1.....	58
5.1.2	Hasil <i>Binding Affinity</i> Kuersetin dengan TUBB3.....	60
5.2	Hasil Visualisasi <i>Molecular Docking</i> .....	63
5.2.1	Hail Visualisasi <i>Molecular Docking</i> TUBB1 dengan Ligan.....	63
5.2.2	Hail Visualisasi <i>Molecular Docking</i> TUBB3 dengan Ligan.....	65

**BAB 6. PEMBAHASAN**

6.1	Ikatan Paclitaxel dengan TUBB1 .....	68
6.2	Interaksi Ikatan Paclitaxel dengan TUBB1.....	69



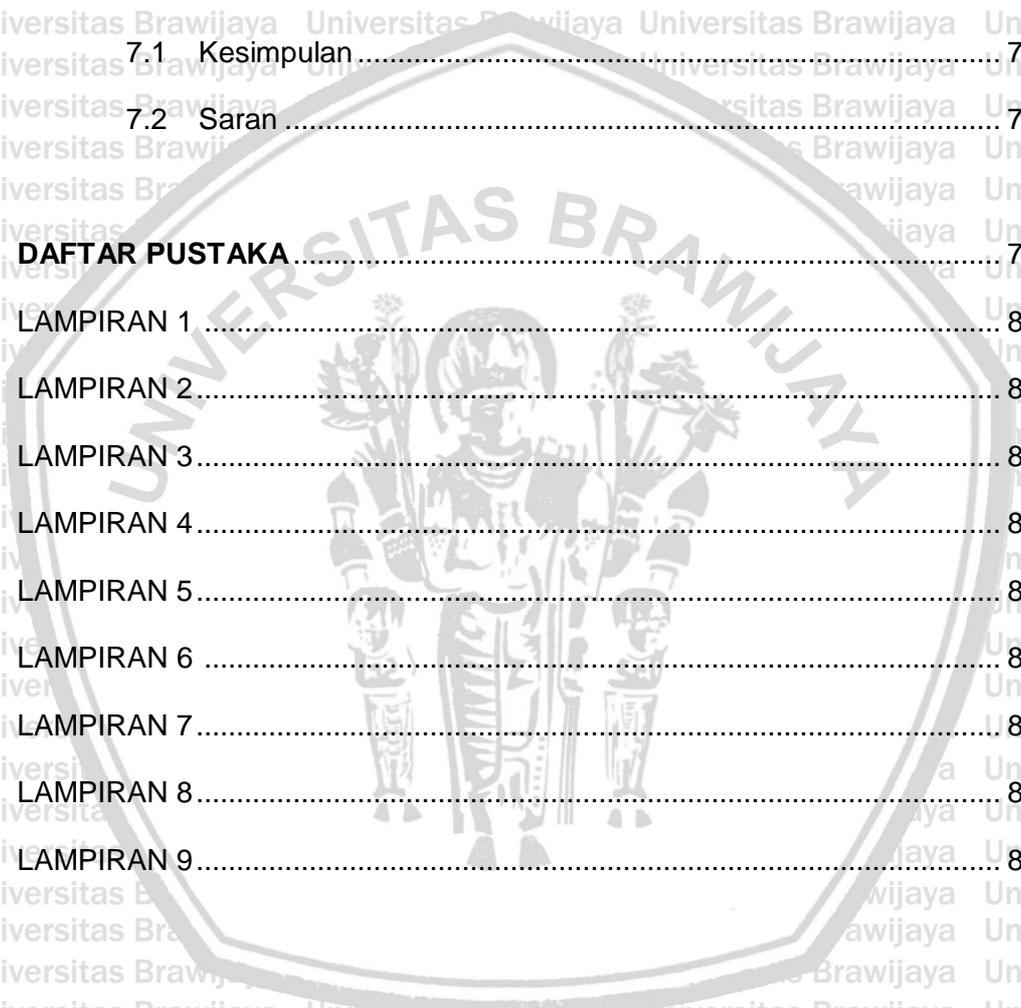
6.3 Ikatan Kuersetin dengan TUBB3.....	70
6.4 Interaksi Ikatan Kuersetin dengan TUBB3.....	71
6.5 Keterbatasan Penelitian.....	73

**BAB 7. PENUTUP**

7.1 Kesimpulan.....	74
7.2 Saran.....	74

**DAFTAR PUSTAKA.....**

LAMPIRAN 1.....	80
LAMPIRAN 2.....	80
LAMPIRAN 3.....	81
LAMPIRAN 4.....	81
LAMPIRAN 5.....	82
LAMPIRAN 6.....	83
LAMPIRAN 7.....	84
LAMPIRAN 8.....	86
LAMPIRAN 9.....	87



HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**UJI IKATAN ANTARA KUERSETIN DALAM BENALU MANGGA  
(*Dendrophthoe pentandra*) DENGAN  $\beta$ -TUBULIN III (TUBB3) SEBAGAI  
AGEN KOKEMOTERAPI PACLITAXEL PADA SEL KANKER PAYUDARA  
SECARA *IN SILICO***

Oleh :  
**Amalda Widia Besari**  
NIM: 165070107111034

Telah diuji pada  
Hari : Kamis  
Tanggal : 12 Desember 2019

Dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji I

Dr. dr. M. Bachtiar Budianto, Sp. B (K) Onk.  
NIP. 196707251996031003

Pembimbing I/Penguji II,

Agustina Tri Enchari, S.Si, Ph.D  
NIP. 196908101998022001

Pembimbing II/Penguji III,

dr. Eviana Norahmawati, Sp.PA. (K)  
NIP. 196910281997022001

Mengetahui,  
Ketua Program Studi Pendidikan Dokter



dr. Triwahju Astuti, M.Kes., Sp.P(K)  
NIP. 196310221996012001

## ABSTRAK

Besari, Amalda Widia. 2019. **Uji Ikatan Antara Kuersetin dalam Benalu Mangga (*Dendrophthoe pentandra*) dengan  $\beta$ -tubulin III (TUBB3) Sebagai Agen Kokemoterapi Paclitaxel pada Sel Kanker Payudara Secara *In Silico***. Tugas Akhir. Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Agustina Tri Endharti, S.Si, Ph.D (2) dr. Eviana Norahmawati, Sp.PA.(K)

Kanker payudara merupakan keganasan pada jaringan payudara yang bisa berasal dari epitel duktus maupun lobulusnya. Pada kanker payudara terdapat ekspresi  $\beta$ -TUBULIN III (TUBB3) yang merupakan salah satu protein penting yang terkait dengan penyusunan mikrotubulus. Salah satu terapi kanker payudara adalah kemoterapi menggunakan paclitaxel. Paclitaxel bekerja dengan mengikat tubulin yang merupakan komponen protein mikrotubulus, sekaligus mempromosikan penyusunan dan pembongkaran tubulin untuk membentuk mikrotubulus yang stabil dan tidak berfungsi sehingga menyebabkan kematian sel. Namun, pemberian kemoterapi tunggal menimbulkan berbagai efek samping serta kurang memberikan efek yang adekuat sehingga perlu dikombinasikan dengan agen yang dapat bekerja sinergis sebagai agen kokemoterapi. Kuersetin pada benalu mangga memiliki potensi sebagai antikanker dengan cara menghambat proliferasi sel kanker dan menipiskan mikrotubulus seluler. Penelitian ini dilakukan untuk memprediksi secara molekuler peran kuersetin dalam berikatan dengan TUBB3 sehingga terjadi apoptosis dan berperan sinergis sebagai kokemoterapi kanker payudara. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental *in silico* melalui metode docking menggunakan sampel dari database *pubchem* dan Protein Data Bank, yang bertujuan untuk mengetahui daya ikatan kuersetin dengan TUBB3. Metode molecular docking dalam penelitian ini dilakukan menggunakan software PyRX 0.8, untuk mengetahui afinitas ikatan, PyMOL 2.0.6 untuk melihat dalam 3 dimensi dan Ligplot untuk melihat ikatan asam amino. Hasilnya *docking* didapatkan afinitas ikatan kuersetin dengan TUBB3 sebesar -9,4 kkal/mol sementara afinitas ikatan TUBB3 dengan GTP (kontrol) sebesar -8,9. Kuersetin memiliki afinitas ikatan yang lebih tinggi maka, kuersetin berpotensi menggantikan posisi ligan control dan menimbulkan efek anti kanker nya.

**Kata kunci** : kuersetin,  $\beta$ -TUBULIN III (TUBB3), paclitaxel, benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*)

**ABSTRACT**

Besari, Amalda Widia. 2019. **Binding Test between Quercetin in Mango Parasite (*Dendrophthoe pentandra*) with  $\beta$ -tubulin III (TUBB3) as A Paclitaxel Cocemotherapy Agent in Breast Cancer Cell with *In Silico* Method.** Final Assignment Medical Program, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) Agustina Tri Endharti, S.Si, Ph.D (2) dr. Eviana Norahmawati, Sp.PA.(K)

Breast cancer originates from breast tissue which can originate from the ductal epithelium and lobules. In breast cancer there is  $\beta$ -TUBULIN III (TUBB3) which is one of the important proteins associated with microtubules. One therapy for breast cancer is chemotherapy using paclitaxel. Paclitaxel works by binding to tubulin which is a component of the microtubule protein, while regulating and dismantling tubulin to make microtubules that are stable and do not function causing cell death. However, administration of different side effects provides side effects that need to be improved with agents that can work well as cocemotherapy agents. If you have the potential as an anticancer by inhibiting the proliferation of cancer cells and diluting cellular microtubules. This research was conducted to predict the molecular role in binding to TUBB3 so that apoptosis occurs and synergistically involves as cocemotherapy for breast cancer. This research is an experimental study in silico through the docking method using samples from the pubchem database and Protein Data Bank, which aims to study the power of quercetin bonding with TUBB3. The molecular docking method in this study was carried out using PyRX 0.8 software, to study bonds, PyMOL 2.0.6 to see in 3 dimensions and Ligplot to see amino acid bonds. Docking obtained from bonds with TUBB3 of -9.4 kcal / mol while bonds with TUBB3 with GTP (control) of -8.9. Quercetin has higher bond affinity, quercetin which determines the position of the control ligand and has anti-cancer effect.

**Keyword** : quercetin,  $\beta$ -TUBULIN III (TUBB3), paclitaxel, mango parasite (*Dendrophthoe pentandra*)

## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Kanker adalah penyakit dimana proses pembelahan sel tidak terkendali dan sel-sel tersebut berkemampuan menyerang sel maupun jaringan biologis yang berada di sekitarnya (invasi) atau bisa juga bermigrasi ketempat yang jauh. Terapi untuk kanker biasanya adalah kemoterapi, operasi dan radioterapi atau terapi radiasi (Setiawan, 2018)

Prevalensi kanker di Indonesia pada tahun 2013 sebanyak 1,4% yaitu sekitar 347.792 penduduk. Provinsi di Indonesia dengan prevalensi tertinggi pada kasus penyakit kanker adalah Daerah Istimewa Yogyakarta, yaitu sebesar 4,1%. Menurut estimasi jumlah pasien kanker terbanyak adalah Provinsi Jawa Tengah yaitu sebanyak 68.638 orang dan Provinsi Jawa Timur yaitu sebanyak 61.230 orang. Kanker payudara adalah kanker dengan prevalensi tertinggi kedua di Indonesia pada tahun 2013 yaitu sebesar 0,5%. Daerah Istimewa Yogyakarta merupakan provinsi dengan prevalensi kanker payudara tertinggi, yaitu sebesar 2,4%. Menurut estimasi Provinsi Jawa Timur dan Provinsi Jawa Tengah merupakan provinsi dengan jumlah pasien kanker payudara terbanyak (Kemenkes, 2015).

Beberapa negara termasuk Indonesia telah mengembangkan beragam metode pengobatan kanker. Pengobatan yang dapat dilakukan untuk penyakit kanker adalah kemoterapi, radioterapi, tindakan pembedahan,

imunoterapi, dan hormonoterapi (Sandina, 2011). Menurut Denton kemoterapi bertujuan untuk membunuh sel kanker, tetapi sel yang ada di seluruh tubuh juga dibunuh, tidak hanya sel kanker (Fauziana, 2011)

Salah satu contoh agen kemoterapi untuk kanker payudara adalah Paclitaxel. Paclitaxel adalah obat golongan antineoplastik taksoid yang digunakan untuk terapi kanker payudara dan sebagai lini pertama untuk pengobatan karsinoma ovarium lanjut. (McGuire *et al.*, 2014). Namun kegagalan sering terjadi dalam usaha pengobatan kanker, utamanya dalam kemoterapi, banyak disebabkan rendahnya selektifitas obat-obat anti kanker dan sensitivitas sel kanker itu sendiri terhadap agen kemoterapi, serta tidak spesifiknya target terapi oleh senyawa yang digunakan untuk kemoterapi, mengakibatkan ikut dibunuh nya sel yang masih sehat dan aktif sehingga menjadi apoptosis. (Da'i dan Ika, 2014)

Efek samping dari paclitaxel yang sering dijumpai adalah reaksi hipersensitif, artralgia, myalgia, neuropati perifer, gangguan saluran cerna, alopecia, peningkatan enzim hati dan efek samping pada sistem hematologi. (McGuire *et al.*, 2014).

Paclitaxel umumnya digunakan dalam bentuk kombinasi dengan agen antikanker lainnya seperti cisplatin, trastuzumab, doxorubicin. Penggunaan kombinasi dengan agen lain cenderung memiliki peningkatan respon klinis dan dapat mengurangi efek samping dibandingkan penggunaan paclitaxel tunggal (Chaundry *et al.*, 2011). Oleh sebab itu pengembangan agen antikanker dengan efek samping yang rendah maupun agen kombinasi yang

dapat menurunkan efek samping paclitaxel masih perlu terus diupayakan (Hermawan, 2018).

Benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) adalah tumbuhan yang tergolong dalam kelompok parasit yang menempel pada pohon mangga.

Tanaman ini tumbuh di banyak negara termasuk Indonesia dan masuk dalam kelompok family *Loranthaceae*. Pada awalnya, benalu mangga dianggap kurang bermanfaat karena sifatnya yang menempel dan merusak tanaman inang. Tetapi saat ini benalu mangga telah dilaporkan mempunyai efek sebagai obat anti kanker (Tyas, 2011), kemoprevensi, agen pendamping kemoterapi, agen antiinflamasi (Ikawati dkk., 2008) dan memiliki efek respon imunobiologi (Sitompul dan Debora, 2016). Kandungan kimia yang terdapat dalam benalu adalah flavonoid, tanin, saponin, alkaloid, karbohidrat dan asam amino (Ikawati dkk., 2008).

Salah satu molekul flavonol pada benalu mangga adalah kuersetin (Han, *et al.*, 2007). Senyawa kuersetin memiliki senyawa antioksidan yang dapat menghambat proses karsinogenesis. Senyawa karsinogen adalah senyawa yang dapat mengoksidasi DNA dan menyebabkan mutasi (Kakizoe, 2003).

Kuersetin menghambat proliferasi sel kanker dengan merusak struktur mikrotubulus seluler dan mengganggu fungsinya. Pengikatan kuersetin ke tubulin menginduksi perubahan konformasi dalam tubulin dan mekanisme di mana kuersetin dapat mengganggu dinamika polimerisasi mikrotubulus.

Kuersetin menghambat proliferasi sel kanker setidaknya sebagian dengan

mengganggu fungsi mikrotubulus melalui pengikatan tubulin. Sehingga kuersetin pada benalu mangga diduga bisa menjadi agen ko-kemoterapi paclitaxel untuk pengobatan kanker payudara. Salah satu cara untuk mengukur potensi kuersetin sebagai agen ko-kemoterapi paclitaxel adalah dengan melakukan *molecular docking* (Panda, *et al.*, 2000).

$\beta$ -TUBULIN III (TUBB3) adalah salah satu protein penting yang terkait dengan perakitan mikrotubulus, ia juga sangat diekspresikan dalam berbagai macam tumor baik dari neuronal maupun non-neuronal. Ekspresi TUBB3 dikontrol secara ketat pada berbagai tingkat dengan mekanisme regulasi bergantung jaringan. Misalnya, ekspresi TUBB3 berada di bawah kendali estrogen dalam sel kanker payudara. Pada beberapa tetapi tidak semua kanker, ekspresi TUBB3 murni merupakan biomarker prognostik, memprediksi hasil buruk pasien tanpa perawatan kemoterapi (Karki dan Ferlini, 2018).

*Molecular docking* adalah teknik biokomputasi untuk memprediksi interaksi energi antara dua molekul, yaitu ligan dengan reseptornya. Interaksi antara reseptor dengan ligan dapat berupa ikatan protein dengan protein, protein dengan obat, protein dengan DNA, ataupun protein dengan molekul lain. Prediksi dari *molecular docking* dapat dilakukan untuk mengasumsikan sisi aktif dari molekul protein. Meskipun *molecular docking* memiliki peran penting dalam desain rasional obat, namun hasil tersebut tetap tidak bisa diterapkan tanpa uji *in vitro* dan *in vivo*. Oleh karena itu, setelah terbukti adanya ikatan antara ligan-makromolekul secara *in silico*,

perlu dilakukan validasi uji *in vivo* dan *in vitro* (Plewczynski, 2014). *Molecular docking* dibagi menjadi *search algorithm* dan *scoring function*. *Search algorithm* digunakan untuk menentukan konformasi optimal yang mungkin terjadi untuk membentuk kompleks reseptor dan ligan. Sedangkan untuk *scoring function* digunakan untuk memprediksi kuatnya ikatan yang disebut *binding affinity* antara reseptor dan ligan yang *didocking* (Pakpahan *et al.*, 2013).

*Binding affinity* adalah kekuatan interaksi antara ligan/obat dan protein/reseptornya. Nilai *binding affinity* berbanding terbalik dengan potensinya (Salahudeen dan Nishtala, 2016). Semakin negatif nilai *binding affinity*, semakin kuat ikatan dan potensinya dalam memberikan efek pada tubuh (Das *et al.*, 2016).

Dari uraian diatas perlu dilakukan penelitian untuk menguji afinitas dari kuersetin ekstrak benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) terhadap sel kanker payudara secara *in silico* dengan *molecular docking* untuk mengetahui lebih lanjut apakah kuersetin dapat dipergunakan sebagai kokemoterapi paclitaxel sebagai obat anti kanker yang lebih efektif dan aman khususnya pada kanker payudara.

## 1.2 Rumusan Masalah

### 1.2.1 Rumusan Masalah Umum

Apakah terdapat ikatan antara kuersetin dalam benalu manga (*Dendrophthoe pentandra*) dengan TUBB3 yang berpotensi sebagai agen kokemoterapi paclitaxel pada sel kanker payudara secara *in silico*.

### 1.2.2 Rumusan Masalah Khusus

1. Apakah terdapat ikatan antara kuersetin dari benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) dengan TUBB3 secara *in silico* ?
2. Berapakah afinitas ikatan kuersetin dalam benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) terhadap TUBB3 secara *in silico*?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui adanya ikatan antara kuersetin dalam benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) dengan TUBB3 yang berpotensi sebagai agen kokemoterapi paclitaxel pada sel kanker payudara secara *in silico*.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Membuktikan bahwa terdapat ikatan antara kuersetin benalu manga (*Dendrophthoe pentandra*) dengan TUBB3 secara *in silico*.
2. Mengetahui berapa afinitas ikatan kuersetin terhadap TUBB3 pada sel kanker payudara secara *in silico*.

## 1.4 Manfaat Penelitian

### 1.4.1 Manfaat Akademik

Mengembangkan ilmu pengetahuan tentang terapi kanker payudara secara herbal dengan efek toksik yang minimal.

### 1.4.2 Manfaat Praktis

Sebagai informasi kepada masyarakat mengenai manfaat ekstrak benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) yang bisa digunakan sebagai agen anti kanker payudara.



## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Kanker

Kanker adalah penyakit yang bisa menyerang seluruh bagian tubuh.

Kanker juga dikenal dengan istilah lain yaitu tumor ganas atau neoplasma. Kanker identik dengan pertumbuhan sel-sel tubuh yang bersifat abnormal dan melampaui batas (tumbuh secara cepat dan tidak terkendali). Pada awalnya kanker menyerang sebagian sel-sel tubuh kemudian menyebar ke sel-sel tubuh yang lain.

Peristiwa ini disebut metastasis. Metastasis termasuk penyebab kematian yang paling sering terjadi pada kanker (WHO, 2013).

Kerusakan terhadap *Deoxyribose Nucleic Acid* (DNA) merupakan penyebab pertumbuhan sel kanker yang tidak terkendali, sehingga menyebabkan mutasi pada suatu gen yang berperan penting dalam mengontrol pembelahan sel (Sunaryati, 2011). Sel kanker awalnya merupakan sel normal yang melalui proses transformasi yang mana terdiri dari fase inisiasi dan tahap promosi. Pada fase inisiasi sel normal bisa terpengaruh perubahan genetik menjadi sel kanker. Mutasi pada sel-sel kanker disebabkan oleh suatu agen kimia atau fisik yang disebut karsinogen (Chotimah, 2014).

#### 2.2 Kanker Payudara

##### 2.2.1 Pengertian Kanker Payudara

Kanker payudara adalah keganasan pada jaringan payudara yang bisa berasal dari epitel duktus maupun lobulusnya (Kemenkes, 2018). Sebagian besar tumor payudara dapat terdeteksi oleh mamografi adalah tumor yang bersifat jinak

(*benign*). Pertumbuhan tumor jinak yang tidak bersifat kanker tersebut tidak menyebar di luar payudara ke jaringan maupun organ lainnya. (Standford Cancer Institute, 2017).

Terkadang sulit untuk membedakan antara *benign* dengan ganas (*malignant*) menggunakan mammografi. Jika sel ganas tidak melalui membran basal dan menyebar ke jaringan sekitarnya disebut *in situ* atau *non-invasive*. Jika kanker telah melewati membran basal dan menyebar ke jaringan sekitarnya maka disebut *invasive* (Raad, *et al.* 2012).

### 2.2.2 Epidemiologi

Menurut data yang diperoleh dari proyek kanker global (GLOBOCAN 2012) diperkirakan 1.671.149 kasus baru kanker payudara diidentifikasi dan 521.907 kasus kematian akibat kanker payudara terjadi di dunia pada tahun 2012.

Menurut GLOBOCAN, kanker payudara merupakan kanker yang paling umum terjadi pada wanita yang mencakup 25,1% dari semua jenis kanker. Kejadian kanker payudara di negara maju lebih tinggi, sementara angka kematian relatif terbesar di negara-negara kurang berkembang (Ghoncheh *et al.*, 2016).

### 2.2.3 Anatomi Payudara

Payudara pada perempuan sebagian besar terdiri dari *lobules*, *ducts*, dan *stroma*. Setiap payudara memuat antara 15 – 25 *lobes* yang terhubung pada puting melalui *ducts*. Setiap *lobe* tersusun atas banyak *lobules* (Raad, *et al.* 2012).

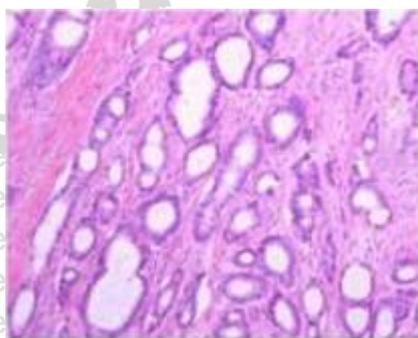


**Gambar 2.1 Anatomi Payudara**

Keterangan : *Lobules* merupakan kelenjar yang memproduksi susu. *Ducts* merupakan pipa kecil yang membawa susu dari *lobules* menuju puting. *Stroma* merupakan jaringan lemak dan jaringan penghubung sekeliling *ducts* dan *lobules*, seperti pembuluh darah dan pembuluh limfa. (Raad, et al. 2012).

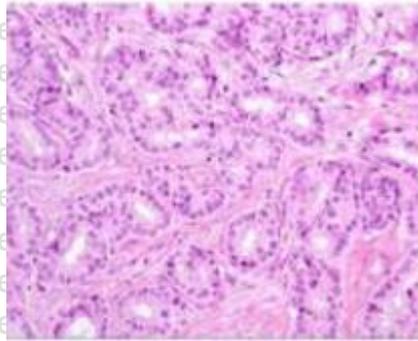
### 2.2.4. Gambaran Histopatologis

Pada kasus kanker payudara usia muda gambaran histopatologis yang dominan adalah karsinoma duktal invasif tipe tidak spesifik dengan batas tumor yang tidak tegas, terdapat invasi ke pembuluh darah, pembuluh limfe dan sangat sedikit kasus ditemukan karsinoma duktal in situ. Gambaran lain yang memungkinkan seperti halnya karsinoma lobular invasif, tumor filoides malignan dan jenis karsinoma lainnya (M. Batori *et al.*, 2006)



**Gambar 2.2 Histopatologis Kanker Payudara**

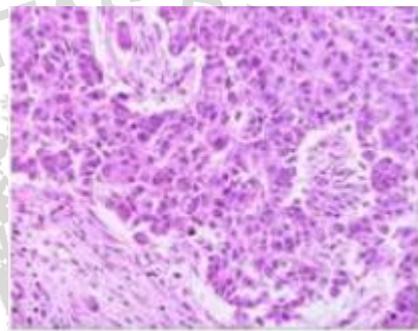
Keterangan : Merupakan jenis well-differentiated tumor, jumlah mitosis masih tergolong rendah.  
Dikutip dari : Disease of The Breast. Patology of Invansive Breast Cancer Chapter 25



**Gambar 2.3 Histopatologis Kanker Payudara**

Keterangan : Merupakan moderately-differentiated tumor

Dikutip dari : Disease of The Breast. Patology of Invansive Breast Cancer Chapter 25



**Gambar 2.4 Histopatologis Kanker Payudara**

Keterangan : Poorly-differentiated tumor, tidak ada pembentukan tubulus

Dikutip dari : Disease of The Breast. Patology of Invansive Breast Cancer Chapter 25

### 2.2.5. Mekanisme Kanker Payudara

Mekanisme molekuler yang mempengaruhi risiko terjadinya kanker payudara dan progresi dari penyakit ini belum diketahui secara pasti namun aktivasi onkogen yang disebabkan oleh modifikasi genetik (mutasi, amplifikasi atau penyusunan ulang kromosomal) atau oleh modifikasi epigenetik (ekspresi berlebihan) dilaporkan mampu mengarahkan pada terjadinya multiplikasi dan migrasi sel. Beberapa onkogen telah diketahui mempengaruhi karsinogenesis kanker payudara, diantaranya *Ras*, *c-myc*, *epidermal growth factor receptor* (EGFR, erb-B1), dan erb-B2 (HER-2/neu) (Greenwald, 2002). Perubahan ekspresi maupun fungsi dari gen supresor tumor seperti *BRCA1*, *BRCA2* dan *p53* tidak

sepenuhnya bertanggung jawab dalam tingginya prevalensi kanker payudara spontan. Mutasi atau ketiadaan *BRCA1* terdapat pada <10% kanker payudara, sementara itu mutasi *p53* terjadi pada lebih dari 30% kanker payudara (Bouker et al., 2005).

### 2.2.6. Klasifikasi Kanker Payudara

Ada beberapa tipe kanker payudara, yaitu:

#### a. *Ductal carcinoma in situ* (DCIS)

DCIS diartikan dengan munculnya sel-sel abnormal yang melapisi saluran payudara tanpa adanya pertumbuhan di sepanjang dinding duktus hingga jaringan payudara sehingga disebut juga kanker payudara non-invasif (American Cancer Society, 2017).

#### b. *Invasive ductal carcinoma* (IDC)

IDC merupakan kanker payudara yang paling umum. Sel yang melapisi saluran payudara mengalami abnormal, kemudian sel-sel abnormal tersebut menerobos dinding duktus dan menyerang jaringan payudara sehingga sel-sel kanker dapat menyebar ke kelenjar getah bening terdekat atau bagian lain dari tubuh (American Cancer Society, 2017).

#### c. *Invasive lobular carcinoma* (ILC)

Kanker mulai terjadi pada sel-sel yang melapisi kelenjar susu (lobulus). Sel-sel abnormal tumbuh melalui dinding lobulus, kemudian dapat menyebar ke kelenjar getah bening terdekat atau bagian lain dari tubuh (American Cancer Society, 2017).

#### d. *Inflammatory breast cancer* (IBC)

IBC merupakan tipe yang jarang ditemui dari kanker payudara invasif. Pada penderita IBC, tidak ditemui benjolan tunggal atau tumor. Akan tetapi, kulit payudara terlihat merah, lebih tebal, dan terasa hangat (American Cancer Society, 2017).

### 2.2.7. Faktor Resiko Kanker Payudara

#### a. Jenis Kelamin

Payudara pada pria maupun wanita memiliki sifat yang sama, tetapi tingkat pertumbuhan payudara pada perempuan lebih tinggi dibandingkan dengan pria. Hal tersebut disebabkan karena pertumbuhan payudara pada wanita dipengaruhi oleh hormon *estrogen* dan *progesterone*. Oleh karena itu, wanita memiliki tingkat resiko terkena kanker payudara lebih tinggi dibandingkan pria (American Cancer Society, 2017).

#### b. Usia

Resiko terkena kanker payudara sebanding dengan meningkatnya usia. Wanita yang berusia kurang dari empat puluh tahun beresiko lebih kecil dibandingkan wanita berusia enam puluh tahun keatas (American Cancer Society, 2017).

#### c. Faktor Genetik

Sekitar 5 – 10% kasus kanker payudara diturunkan secara hereditas. Hal tersebut disebabkan mutasi gen yang diturunkan oleh orang tua. Mutasi warisan pada BRCA1 atau BRCA2 yang biasanya menjadi penyebab kanker payudara keturunan. Wanita dengan mutasi BRCA beresiko tinggi terkena kanker payudara selama hidupnya. (American Cancer Society, 2017).

#### d. Riwayat Keluarga Kanker Payudara

Resiko terkena kanker payudara pada wanita yang memiliki riwayat anggota keluarga terkena kanker lebih tinggi dibandingkan dengan wanita yang tidak memiliki riwayat kanker pada keluarganya (American Cancer Society, 2017).

### 2.2.8. Diagnosis Kanker Payudara

#### a. Gejala

1. Penderita merasakan adanya perubahan pada payudara atau pada puting susunya

- a. Benjolan atau penebalan dalam atau sekitar payudara atau di daerah ketiak

- b. Puting susu terasa mengeras

2. Penderita melihat perubahan pada payudara atau pada puting susunya

- a. Perubahan ukuran maupun bentuk dari payudara

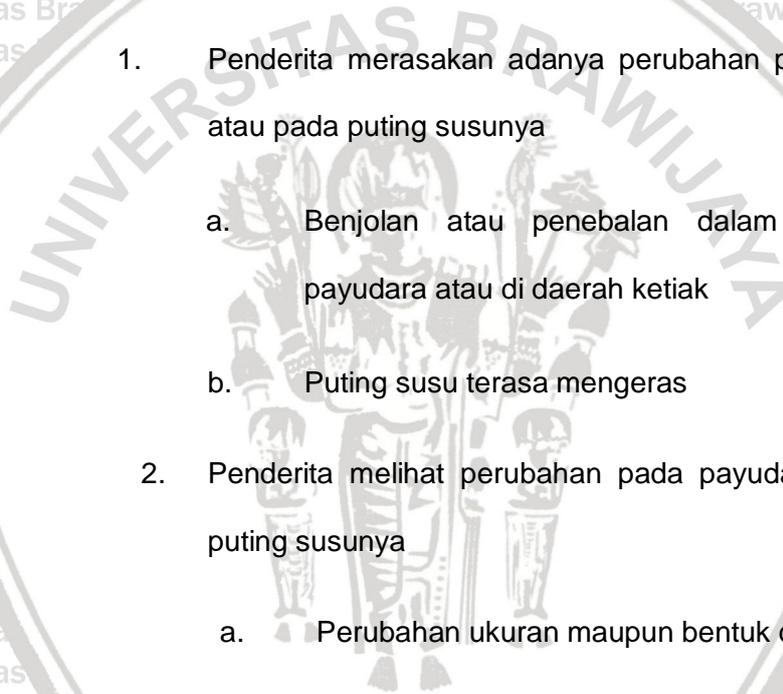
- b. Puting susu tertarik ke dalam payudara

- c. Kulit payudara, areola, atau puting bersisik, merah, atau bengkak.

Kulit mungkin berkerut-kerut seperti kulit jeruk.

3. Keluarnya sekret atau cairan dari puting susu

Pada awal kanker payudara biasanya penderita tidak merasakan nyeri. Bila sel kanker telah



menyebar, biasanya sel kanker bisa ditemukan di kelenjar limfe yang berada di sekitar payudara. Sel kanker juga bisa menyebar ke berbagai bagian tubuh lain, paling sering ke tulang, hati, paru-paru, dan otak (American Cancer Society, 2017).

Pada 33% kasus kanker payudara, penderita menemukan benjolan pada payudaranya. Tanda dan gejala lain dari kanker payudara yang jarang ditemukan antara lain pembesaran atau asimetrisnya payudara, perubahan pada puting susu dapat berupa retraksi atau keluar sekret, ulserasi atau eritema kulit payudara, massa di ketiak, ketidaknyamanan muskuloskeletal. 50% wanita dengan kanker payudara tidak mempunyai gejala apapun. Nyeri pada payudara biasanya berhubungan dengan kelainan yang bersifat jinak. (American Cancer Society, 2017)

b. Pemeriksaan fisik

1. Inspeksi

Inspeksi bentuk, ukuran, dan simetris dari kedua payudara, apakah terdapat edema (peau d'orange), retraksi kulit, atau puting susu, dan eritema (American Cancer Society, 2017).

2. Palpasi

Palpasi dilakukan pada payudara apakah terdapat massa, termasuk palpasi kelenjar limfe di aksila, supraklavikula, dan parasternal. Setiap massa yang teraba atau suatu lymphadenopathy, harus dinilai lokasinya, ukurannya, konsistensinya, bentuk, mobilitas atau fiksasinya (American

Cancer Society, 2017).

c. Pemeriksaan penunjang

1. Mammografi

Mammografi merupakan pemeriksaan yang paling dapat diandalkan untuk mendeteksi kanker payudara sebelum benjolan atau massa dapat dipalpsi. Karsinoma yang tumbuh lambat dapat diidentifikasi dengan mammografi setidaknya 2 tahun sebelum mencapai ukuran yang dapat dideteksi melalui palpasi (American Cancer Society, 2017).

Mammografi telah digunakan di Amerika Utara sejak tahun 1960 dan teknik ini terus dimodifikasi dan diimprovisasi untuk meningkatkan kualitas gambarnya. Mammografi konvensional menyalurkan dosis radiasi sebesar 0,1 sentigray (cGy) setiap penggunaannya. Sebagai perbandingan, Foto X-ray thoraks menyalurkan 25% dari dosis radiasi mammografi. Mammografi dapat digunakan baik sebagai skrining maupun diagnostik. Mammografi mempunyai 2 jenis gambaran, yaitu kraniokaudal (CC) dan oblik mediolateral (MLO). MLO memberikan gambaran jaringan mammae yang lebih luas, termasuk kuadran lateral atas dan axillary tail of Spence. Dibandingkan dengan MLO, CC memberikan visualisasi yang lebih baik pada aspek medial dan memungkinkan kompresi payudara yang lebih besar (American Cancer Society, 2017).

Radiologis yang berpengalaman dapat mendeteksi karsinoma payudara dengan tingkat false-positive sebesar 10% dan false-negative sebesar 7%. Gambaran mammografi yang spesifik untuk karsinoma

mammae antara lain massa padat dengan atau tanpa gambaran seperti bintang (stellate), penebalan asimetris jaringan mammae dan kumpulan mikrokalsifikasi. Gambaran mikrokalsifikasi ini merupakan tanda penting karsinoma pada wanita muda, yang mungkin merupakan satu-satunya kelainan mammografi yang ada. Mammografi lebih akurat daripada pemeriksaan klinis untuk deteksi karsinoma mammae stadium awal, dengan tingkat akurasi sebesar 90%. Protokol saat ini berdasarkan National Cancer Center Network (NCCN) menyarankan bahwa setiap wanita diatas 20 tahun harus dilakukan pemeriksaan payudara setiap 3 tahun. Pada usia di atas 40 tahun, pemeriksaan payudara dilakukan setiap tahun disertai dengan pemeriksaan mammografi. Pada suatu penelitian atas screening mammography, menunjukkan reduksi sebesar 40% terhadap karsinoma mammae stadium II, III dan IV pada populasi yang dilakukan skrining dengan mammografi (American Cancer Society, 2017).

## 2. Ultrasonografi (USG)

Penggunaan USG merupakan pemeriksaan penunjang yang penting untuk membantu hasil mammografi yang tidak jelas atau meragukan, baik digunakan untuk menentukan massa yang kistik atau massa yang padat.

Pada pemeriksaan dengan USG, kista mammae mempunyai gambaran dengan batas yang tegas dengan batas yang halus dan daerah bebas echo di bagian tengahnya. Massa payudara jinak biasanya menunjukkan kontur yang halus, berbentuk oval atau bulat, echo yang lemah di bagian sentral dengan batas yang tegas. Karsinoma mammae disertai dengan dinding yang

tidak beraturan, tetapi dapat juga terbatas tegas dengan peningkatan akustik. USG juga digunakan untuk mengarahkan fine- needle aspiration biopsy (FNAB), core- needle biopsy dan lokalisasi jarum pada lesi payudara. USG merupakan pemeriksaan yang praktis dan sangat dapat diterima oleh pasien tetapi tidak dapat mendeteksi lesi dengan diameter  $\leq 1$  cm (American Cancer Society, 2017).

### 3. *Magnetic Resonance Imaging (MRI)*

Sebagai alat diagnostik tambahan atas kelainan yang didapatkan pada mammografi, lesi payudara lain dapat dideteksi. Akan tetapi, jika pada pemeriksaan klinis dan mammografi tidak didapat kelainan, maka kemungkinan untuk mendiagnosis karsinoma mammae sangat kecil (American Cancer Society, 2017).

MRI sangat sensitif tetapi tidak spesifik dan tidak seharusnya digunakan untuk skrining. Sebagai contoh, MRI berguna dalam membedakan karsinoma mammae yang rekuren atau jaringan parut. MRI juga bermanfaat dalam memeriksa mammae kontralateral pada wanita dengan karsinoma payudara, menentukan penyebaran dari karsinoma terutama karsinoma lobuler atau menentukan respon terhadap kemoterapi neoadjuvant (American Cancer Society, 2017).

### 4. Biopsi

*Fine-needle aspiration biopsy* (FNAB) dilanjutkan dengan pemeriksaan sitologi merupakan cara praktis dan lebih murah daripada biopsi eksisional dengan resiko yang rendah. Teknik ini memerlukan

patologis yang ahli dalam diagnosis sitologi dari karsinoma mammae dan juga dalam masalah pengambilan sampel, karena lesi yang dalam mungkin terlewatkan. Insidensi *false-positive* dalam diagnosis adalah sangat rendah, sekitar 1-2% dan tingkat *false-negative* sebesar 10%. Kebanyakan klinisi yang berpengalaman tidak akan menghiraukan massa dominan yang mencurigakan jika hasil sitologi FNAB adalah negatif, kecuali secara klinis, pencitraan dan pemeriksaan sitologi semuanya menunjukkan hasil negative (American Cancer Society, 2017).

*Large-needle (core-needle) biopsy* mengambil bagian sentral atau inti jaringan dengan jarum yang besar. Alat biopsi genggam membuat *large-core needle biopsy* dari massa yang dapat dipalpasi menjadi mudah dilakukan di klinik dan *cost-effective* dengan anestesi local (American Cancer Society, 2017).

*Open biopsy* dengan lokal anestesi sebagai prosedur awal sebelum memutuskan tindakan definitif merupakan cara diagnosis yang paling dapat dipercaya. FNAB atau *core-needle biopsy*, ketika hasilnya positif, memberikan hasil yang cepat dengan biaya dan resiko yang rendah, tetapi ketika hasilnya negatif maka harus dilanjutkan dengan *open biopsy*. *Open biopsy* dapat berupa biopsi insisional atau biopsi eksisional. Pada biopsi insisional mengambil sebagian massa payudara yang dicurigai, dilakukan bila tidak tersedianya *core-needle biopsy* atau massa tersebut hanya menunjukkan gambaran DCIS saja atau klinis curiga suatu inflammatory carcinoma tetapi tidak tersedia *core-needle biopsy*. Pada biopsi eksisional, seluruh massa payudara diambil (American Cancer Society, 2017).

## 5. Biomarker

Biomarker karsinoma mammae terdiri dari beberapa jenis. Biomarker sebagai salah satu faktor yang meningkatkan resiko karsinoma mammae. Biomarker ini mewakili gangguan biologik pada jaringan yang terjadi antara inisiasi dan perkembangan karsinoma. Biomarker ini digunakan sebagai hasil akhir dalam penelitian kemopreventif jangka pendek dan termasuk perubahan histologis, indeks dari proliferasi dan gangguan genetik yang mengarah pada karsinoma. Nilai prognostik dan prediktif dari biomarker untuk karsinoma mammae antara lain (1) petanda proliferasi seperti *proliferating cell nuclear antigen* (PCNA), BrUdr dan Ki- 67; (2) petanda apoptosis seperti bcl-2 dan rasio bax:bcl-2; (3) petanda angiogenesis seperti *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dan indeks angiogenesis; (4) *growth factors* dan *growth factor receptors* seperti *human epidermal growth receptor* (HER)-2/neu dan *epidermal growth factor receptor* (EGFr) dan (5) p53 (American Cancer Society, 2017).

### 2.2.9. Skrining Kanker Payudara

Rekomendasi untuk deteksi kanker payudara dini menurut American Cancer Society (2017) :

- Wanita berumur  $\geq 40$  tahun harus melakukan screening mammogram secara terus-menerus selama mereka dalam keadaan sehat, dianjurkan setiap tahun.
- Wanita berumur 20-30 tahun harus melakukan pemeriksaan klinis payudara (termasuk mammogram) sebagai bagian dari pemeriksaan kesehatan yang periodik oleh dokter, dianjurkan setiap 3 tahun.

- Setiap wanita dianjurkan untuk melakukan pemeriksaan payudara sendiri mulai umur 20 tahun. untuk kemudian melakukan konsultasi ke dokter bila menemukan kelainan.
- Wanita yang berisiko tinggi (>20%) harus melakukan pemeriksaan MRI dan mammogram setiap tahun.
- Wanita yang risiko sedang (15-20%) harus melakukan mammogram setiap tahun, dan konsultasi ke dokter apakah perlu disertai pemeriksaan MRI atau tidak.
- Wanita yang risiko rendah (<15%) tidak perlu pemeriksaan MRI periodik tiap tahun.
- Wanita termasuk risiko tinggi bila :
  - mempunyai gen mutasi dari BRCA1 atau BRCA2
  - mempunyai kerabat dekat tingkat pertama (orang tua, kakak-adik) yang memiliki gen mutasi dari BRCA1 atau BRCA2 tetapi belum pernah melakukan pemeriksaan genetik
  - mempunyai risiko kanker  $\geq 20\text{-}25\%$  menurut penilaian faktor risiko terutama berdasarkan riwayat keluarga
  - pernah mendapat radioterapi pada dinding dada saat umur 10-30 tahun
  - mempunyai Li-Fraumeni syndrome, Cowden syndrome, atau Bannayan- Riley-Ruvalcaba syndrome, atau ada kerabat dekat tingkat pertama memiliki salah satu sindrom-sindrom ini.
- Wanita dengan risiko sedang bila :
  - mempunyai risiko kanker 15-20% menurut penilaian faktor risiko terutama berdasarkan riwayat keluarga
  - mempunyai riwayat kanker pada satu payudara, ductal

carcinoma in situ (DCIS), lobular carcinoma in situ (LCIS), atypical ductal hyperplasia (ADH), atau atypical lobular hyperplasia (ALH) mempunyai kepadatan yang tidak merata atau berlebihan terlihat pada pemeriksaan mammogram (American Cancer Society, 2017)

<b>Tabel 2.1 TNM Staging System untuk Breast Cancer</b>	
<b>Tumor Primer (T)</b>	
TX	Tumor primer tidak dapat dinilai
T0	Tidak ada bukti terdapat tumor primer
Tis	Carcinoma in situ
Tis(DCIS)	Ductal carcinoma in situ
Tis(LCIS)	Lobular carcinoma in situ
Tis(Paget's )	Paget's disease dari papilla mammae tanpa tumor (Catatan : Paget's disease yang berhubungan dengan tumor diklasifikasikan menurut ukuran tumor)
T1	Tumor ≤ 2 cm
T1mic	Microinvasion ≤ 0.1
T1a	Tumor > 0.1 cm tetapi tidak lebih dari 0.5 cm
T1b	Tumor > 0.5 cm tetapi tidak lebih dari 1 cm
T1c	Tumor > 1 tetapi tidak lebih dari 2 cm
T2	Tumor > 2 cm tetapi tidak lebih dari 5 cm
T3	Tumor > 5 cm

T4	Tumor ukuran berapapun dengan perluasan langsung ke dinding dada atau kulit, seperti yang diuraikan dibawah ini :
T4a	Perluasan ke dinding dada, tidak melibatkan otot pectoralis
T4b	Edema (termasuk peau d'orange), atau ulserasi kulit [ayudara, atau ada nodul satelit terbatas di kulit payudara yang sama
T4c	Kriteria T4a dan T4b
T4d	Inflammatory carcinoma
<b>Kelenjar Getah Bening—Klinis (N)</b>	
NX	KGB regional tidak dapat dinilai (misalnya sebelumnya telah diangkat)
N0	Tidak ada metastasis ke KGB regional
N1	Metastasis ke KGB aksilla ipsilateral tetapi dapat digerakkan
N2	Metastasis KGB aksilla ipsilateral tetapi tidak dapat digerakkan atau terfiksasi, atau tampak secara klinis ke KGB internal mammary ipsilateral tetapi secara klinis tidak terbukti terdapat metastasis ke KGB aksilla ipsilateral
N2a	Metastasis ke KGB aksilla ipsilateral dengan KGB saling melekat atau melekat ke struktur lain sekitarnya.
N2b	Metastasis hanya tampak secara klinis ke KGB internal mammary ipsilateral dan tidak terbukti secara klinis terdapat metastasis ke KGB aksilla ipsilateral
N3	Metastasis ke KGB infraklavikula ipsilateral dengan atau tanpa keterlibatan KGB aksilla, atau secara klinis ke KGB internal mammary ipsilateral tetapi secara klinis terbukti terdapat metastasis ke KGB aksilla ipsilateral; atau metastasis ke KGB supraklavikula ipsilateral dengan atau tanpa keterlibatan KGB infraklavikula atau aksilla ipsilateral

N3a	Metastasis ke KGB infraklavikula ipsilateral
N3b	Metastasis ke KGB internal mammary dan aksilla
N3c	Metastasis ke KGB supraklavikula ipsilateral
<b>Kelenjar Getah Bening Regional—Patologia anatomi (pN)</b>	
pNX	KGB regional tidak dapat dinilai (sebelumnya telah diangkat atau tidak dilakukan pemeriksaan patologi)
pN0 <sup>b</sup>	Secara histologis tidak terdapat metastasis ke KGB, tidak ada pemeriksaan tambahan untuk isolated tumor cells (Catatan: Isolated tumor cells (ITC) diartikan sebagai sekelompok tumor kecil yang tidak lebih dari 0.2 mm, biasanya dideteksi hanya dengan immunohistochemical (IHC) atau metode molekuler
pN0(i-)	Tidak ada metastasis ke KGB regional secara histologis, IHC (-)
pN0(i+)	Tidak ada metastasis ke KGB regional secara histologis, IHC (+), IHC cluster tidak lebih dari 0.2 mm
pN0(mol-)	Tidak ada metastasis ke KGB regional secara histologis, pemeriksaan molekuler (-) (RT-PCR)
pN0(mol+)	Tidak ada metastasis ke KGB regional secara histologis, pemeriksaan molekuler (+) (RT-PCR)
pN1	Metastasis ke 1-3 KGB aksila, dan atau KGB internal mammary

	terdeteksi secara mikroskopis melalui diseksi sentinel KGB, secara klinis tidak tampak
pN1mi	Micrometastasis (> 0.2 mm, < 2.0 mm)
pN1a	Metastasis ke 1-3 KGB aksila
pN1b	Metastasis ke KGB internal mammary terdeteksi secara mikroskopis melalui diseksi sentinel KGB, secara klinis tidak tampak
pN1c	Metastasis ke 1-3 KGB aksila dan ke KGB internal mammary terdeteksi secara mikroskopis melalui diseksi sentinel KGB, secara klinis tidak tampak (jika berhubungan dengan >3 (+) KGB aksila, KGB internal mammary diklasifikasikan sebagai pN3b)
pN2	Metastasis ke 4-9 KGB aksila, atau tampak secara klinis ke KGB internal mammary tetapi secara klinis tidak terbukti terdapat metastasis ke KGB aksilla
pN2a	Metastasis ke 4-9 KGB aksila (sedikitnya 1 tumor > 2 mm)
pN2b	tampak secara klinis ke KGB internal mammary tetapi secara klinis tidak terbukti terdapat metastasis ke KGB aksilla
pN3	Metastasis ke 10 KGB aksila, atau KGB infraklavikula, atau secara klinis ke KGB internal mammary ipsilateral dan terdapat 1 atau lebih metastasis ke KGB aksilla atau > 3 metastasis ke KGB aksilla tetapi secara klinis microscopic metastasis (-) ke KGB internal mammary; atau ke KGB supraklavikular ipsilateral

pN3a	Metastasis ke $\geq 10$ KGB aksila (minimal 1 tumor $> 2$ mm), atau metastasis ke KGB infraklavikula
pN3b	Secara klinis metastasis ke KGB internal mammary ipsilateral dan terdapat 1 atau lebih metastasis ke KGB aksilla atau $> 3$ metastasis ke KGB aksilla dan dalam KGB internal mammary dengan kelainan mikroskopis yang terdeteksi melalui diseksi KGB sentinel, tidak tampak secara klinis
pN3c	Metastasis ke KGB supraklavikular ipsilateral
<b>Metastasis Jauh (M)</b>	
MX	Metastasis jauh tidak dapat dinilai
M0	Tidak terdapat metastasis jauh
M1	Terdapat metastasis jauh
<p><i>Tampak secara klinis didefinisikan bahwa dapat dideteksi melalui alat pencitraan atau dengan pemeriksaan klinis atau kelainan patologis terlihat jelas.</i></p> <p><i>Tidak tampak secara klinis berarti tidak terlihat melalui alat pencitraan (kecuali dengan lymphoscintigraphy) atau dengan pemeriksaan klinis.</i></p> <p>Klasifikasi berdasarkan diseksi KGB aksila dengan atau tanpa diseksi sentinel dari KGB. Klasifikasi semata-mata berdasarkan diseksi sentinel KGB tanpa diseksi KGB aksila yang selanjutnya direncanakan untuk "sentinel node", seperti pN-(I+)(sn).</p> <p>RT-PCR = reverse transcriptase polymerase chain reaction.</p> <p>SOURCE: Modified with permission from American Joint Committee on Cancer: <i>AJCC Cancer Staging Manual</i>, 6th ed. New York: Springer, 2002, pp 227–228.</p>	

(American Cancer Society, 2017).

**2.2.10. Penatalaksanaan Kanker Payudara**

Terapi dapat bersifat kuratif atau paliatif. Terapi kuratif dianjurkan untuk



stadium I, II, dan III. Pasien dengan tumor lokal lanjut (T3,T4) dan bahkan *inflammatory carcinoma* mungkin dapat disembuhkan dengan terapi multimodalitas, tetapi kebanyakan hanya bersifat paliatif. Terapi paliatif diberikan pada pasien dengan stadium IV dan untuk pasien dengan metastasis jauh atau untuk karsinoma lokal yang tidak dapat direseksi (American Cancer Society, 2017).

A. Terapi secara pembedahan

1. Mastektomi partial (*breast conservation*)

Tindakan konservatif terhadap jaringan payudara terdiri dari reseksi tumor primer hingga batas jaringan payudara normal, radioterapi dan pemeriksaan status KGB (kelenjar getah bening) aksilla. Reseksi tumor payudara primer disebut juga sebagai reseksi segmental, lumpectomy, mastektomi partial dan tylectomy. Tindakan konservatif, saat ini merupakan terapi standar untuk wanita dengan karsinoma mammae invasif stadium I atau II. Wanita dengan DCIS hanya memerlukan reseksi tumor primer dan radioterapi adjuvan. Ketika lumpectomy dilakukan, insisi dengan garis lengkung konsentrik pada nipple-areola complex dibuat pada kulit diatas karsinoma mammae. Jaringan karsinoma diangkat dengan diliputi oleh jaringan mammae normal yang adekuat sejauh 2 mm dari tepi yang bebas dari jaringan tumor. Pun dilakukan permintaan atas status reseptor hormonal dan ekspresi HER-2/neu kepada patologis (American Cancer Society, 2017).

Setelah penutupan luka payudara, dilakukan diseksi KGB aksilla ipsilateral untuk penentuan stadium dan mengetahui penyebaran regional. Saat ini, *sentinel node biopsy* merupakan prosedur staging yang dipilih pada aksilla yang tidak ditemukan adanya pembesaran KGB. Ketika sentinel node biopsy menunjukkan hasil negatif, diseksi KGB aksilla tidak dilakukan (American Cancer Society, 2017).

## 2. *Modified Radical Mastectomy*

*Modified radical mastectomy* mempertahankan baik M. pectoralis mayor and M. pectoralis minor, dengan pengangkatan KGB aksilla level I dan II tetapi tidak level III. Modifikasi Patey mengangkat M. pectoralis minor dan diseksi KGB axilla level III. Batasan anatomis pada *modified radical mastectomy* adalah batas anterior M. latissimus dorsi pada bagian lateral, garis tengah sternum pada bagian medial, bagian inferiornya 2-3 cm dari lipatan infra-mammae dan bagian superiornya m. subclavia (American Cancer Society, 2017).

Seroma dibawah kulit dan di aksilla merupakan komplikasi tersering dari mastektomi dan diseksi KGB aksilla, sekitar 30% dari semua kasus. Pemasangan closed-system suction drainage mengurangi insidensi dari komplikasi ini. Kateter dipertahankan hingga cairan drainage kurang dari 30 ml/hari. Infeksi luka jarang terjadi setelah mastektomi dan kebanyakan terjadi sekunder terhadap nekrosis skin-flap. Pendarahan sedang dan hebat jarang terjadi setelah mastektomi dan sebaiknya dilakukan eksplorasi dini luka untuk mengontrol pendarahan dan memasang ulang *closed-system suction drainage*.

Insidensi lymphedema fungsional setelah *modified radical mastectomy* sekitar 10%. Diseksi KGB aksilla ekstensif, terapi radiasi, adanya KGB patologis dan obesitas merupakan faktor- faktor predisposisi (American Cancer Society, 2017).

B. Terapi secara medikalis (non-pembedahan)

1. Radioterapi

Terapi radiasi dapat digunakan untuk semua stadium karsinoma mammae. Untuk wanita dengan DCIS, setelah dilakukan lumpectomy, radiasi adjuvan diberikan untuk mengurangi resiko rekurensi lokal, juga dilakukan untuk stadium I, IIa, atau IIb setelah lumpectomy. Radiasi juga diberikan pada kasus resiko/kecurigaan metastasis yang tinggi (American Cancer Society, 2017).

Pada karsinoma mammae lanjut (Stadium IIIa atau IIIb), dimana resiko rekurensi dan metastasis yang tinggi maka setelah tindakan pembedahan dilanjutkan dengan terapi radiasi adjuvant (American Cancer Society, 2017).

2. Kemoterapi

a. Kemoterapi adjuvan

Kemoterapi adjuvan memberikan hasil yang minimal pada karsinoma mammae tanpa pembesaran KGB dengan tumor berukuran kurang dari 0,5 cm dan tidak dianjurkan. Jika ukuran tumor 0,6 sampai 1 cm tanpa pembesaran

KGB dan dengan resiko rekurensi tinggi maka kemoterapi dapat diberikan.

Faktor prognostik yang tidak menguntungkan termasuk invasi pembuluh darah atau limfe, tingkat kelainan histologis yang tinggi, overekspresi HER-2/neu dan status reseptor hormonal yang negatif sehingga direkomendasikan untuk diberikan kemoterapi adjuvan. Contoh regimen kemoterapi yang digunakan antara lain; siklofosamid, doxorubicin, 5-fluorourasil dan methotrexate (American Cancer Society, 2017).

Untuk wanita dengan karsinoma mammae yang reseptor hormonalnya negatif dan lebih besar dari 1 cm, kemoterapi adjuvan cocok untuk diberikan.

Rekomendasi pengobatan saat ini, berdasarkan NSABP B-15, untuk stadium IIIa yang operabel adalah modified radical mastectomy diikuti kemoterapi adjuvan dengan doxorubisin diikuti terapi radiasi (American Cancer Society, 2017).

b. Neoadjuvant chemotherapy

Kemoterapi neoadjuvan merupakan kemoterapi inisial yang diberikan sebelum dilakukan tindakan pembedahan, dimana dilakukan apabila tumor terlalu besar untuk dilakukan lumpectomy (American Cancer Society, 2017).

Rekomendasi saat ini untuk karsinoma mammae stadium lanjut adalah kemoterapi neoadjuvan dengan regimen adriamycin diikuti mastektomi atau lumpectomy dengan diseksi KGB aksilla bila diperlukan, diikuti kemoterapi adjuvan, dilanjutkan dengan terapi radiasi. Untuk Stadium IIIa inoperabel dan IIIb, kemoterapi neoadjuvan digunakan untuk menurunkan beban atau ukuran

tumor tersebut, sehingga memungkinkan untuk dilanjutkan modified radical mastectomy, diikuti dengan kemoterapi dan radioterapi (American Cancer Society, 2017).

### 3. Terapi anti-estrogen

Dalam sitosol sel-sel karsinoma mammae terdapat protein spesifik berupa reseptor hormonal yaitu reseptor estrogen dan progesteron. Reseptor hormon ini ditemukan pada lebih dari 90% karsinoma duktal dan lobular invasif yang masih berdiferensiasi baik (American Cancer Society, 2017).

Setelah berikatan dengan reseptor estrogen dalam sitosol, tamoxifen menghambat pengambilan estrogen pada jaringan payudara. Respon klinis terhadap anti-estrogen sekitar 60% pada wanita dengan karsinoma mammae dengan reseptor hormon yang positif, tetapi lebih rendah yaitu sekitar 10% pada reseptor hormonal yang negatif. Kelebihan tamoxifen dari kemoterapi adalah tidak

adanya toksisitas yang berat. Nyeri tulang, hot flushes, mual, muntah dan retensi cairan dapat terjadi pada penggunaan tamoxifen. Resiko jangka panjang penggunaan tamoxifen adalah karsinoma endometrium. Terapi dengan tamoxifen dihentikan setelah 5 tahun. Beberapa ahli onkologi merekomendasikan tamoxifen untuk ditambahkan pada terapi neoadjuvan pada karsinoma mammae stadium lanjut terutama pada reseptor hormonal yang positif. Untuk semua wanita dengan karsinoma mammae stadium IV, anti-estrogen (tamoxifen), dipilih sebagai terapi awal (American Cancer Society,

2017).

#### 4. Terapi antibodi anti-HER2/neu

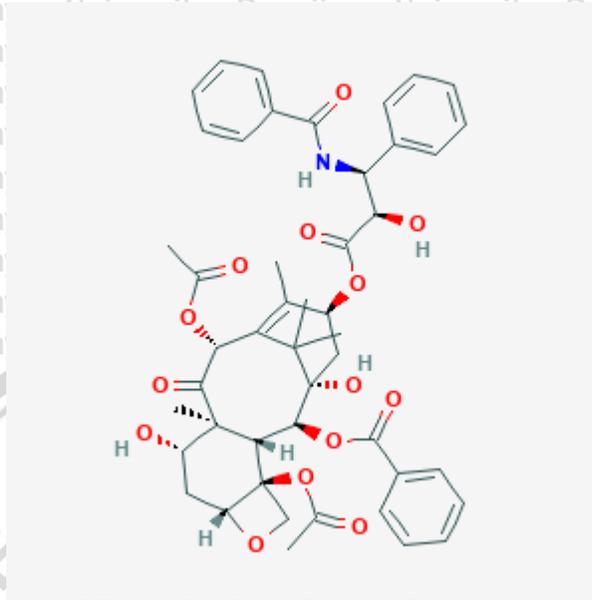
Penentuan ekspresi HER-2/neu pada semua karsinoma mammae yang baru didiagnosis, saat ini direkomendasi. Hal ini digunakan untuk tujuan prognostik pada pasien tanpa pembesaran KGB, untuk membantu pemilihan kemoterapi adjuvan karena dengan regimen adriamycin memberikan respon yang lebih baik pada karsinoma mammae dengan overekspresi HER-2/neu.

Pasien dengan overekspresi Her-2/neu mungkin dapat diobati dengan trastuzumab yang ditambahkan pada kemoterapi adjuvant (American Cancer Society, 2017).

#### 2.2.11. Prognosis Kanker Payudara

Survival rates untuk wanita yang didiagnosis karsinoma mammae antara tahun 1983-1987 telah dikalkulasi berdasarkan pengamatan, epidemiologi dan hasil akhir program data, didapatkan bahwa angka 5-year survival untuk stadium I adalah 94%, stadium IIa 85%, IIb 70%, dimana pada stadium IIIa sekitar 52%, IIIb 48% dan untuk stadium IV adalah 18% (American Cancer Society, 2017).

#### 2.3 Paclitaxel



**Gambar 2.5 Struktur Paclitaxel**

Sumber : <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

Paclitaxel merupakan antineoplastik golongan taxane yang telah menjadi komponen utama rejimen untuk mengobati kanker metastatik ovarium, payudara, paru-paru, GI, kepala dan leher. Obat ini juga digunakan khusus pada kanker ovarium dan kanker mamma yang tersebar setelah terapi dengan cisplatin gagal. Obat ini diisolasi pada tahun 1971 dari kulit pohon yew Pasifik yang mengandung jamur endofit yang mensintesis paclitaxel. (Tjay dan Rahardja, 2007).

Efek samping dari penggunaan paclitaxel sebagai terapi pengobatan kanker yang paling sering terjadi adalah mual, muntah, myelosupresi, arthralgia, myalgia, neuropati perifer, dan reaksi hipersensitifitas (Goodman & Gilman, 2012).

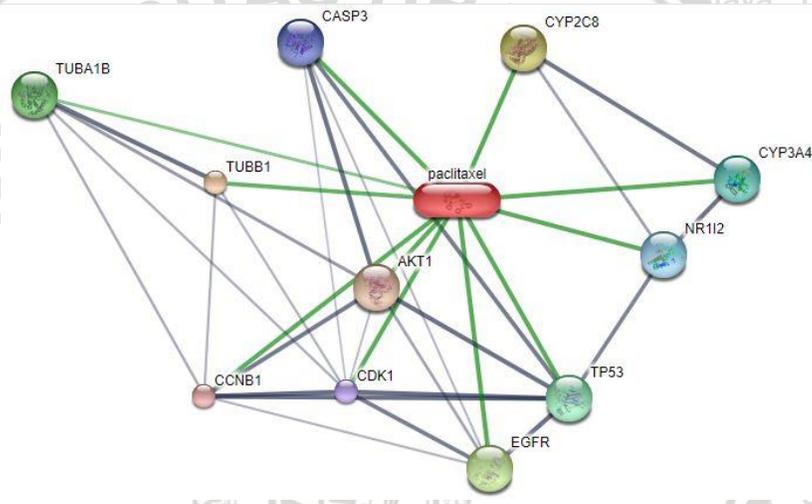
Paclitaxel diberikan melalui infus 3 jam dengan dosis 135-175 mg/m<sup>2</sup> setiap 3 minggu atau sebagai infus 1 jam 80-100 mg/m<sup>2</sup> setiap minggu. (Goodman & Gilman, 2012). Sebagai agen tunggal, paclitaxel diberikan secara intravena dengan dosis 130-170 mg/m<sup>2</sup> selama 3 atau 24 jam setiap 3-4 minggu. Paclitaxel berikatan dengan protein plasma lebih dari 95%. (Rowinsky, 1997)

Seiring dengan berkembangnya berbagai penelitian di berbagai institusi, paclitaxel menjadi obat antikanker paling populer dan paling dicari di dunia karena efek samping yang kecil, efektif, dan efisien dalam membunuh sel kanker (Zhou *et al.*, 2010).

### 2.3.1 Mekanisme Kerja Paclitaxel

Paclitaxel adalah senyawa diterpenoid yang mengandung cincin taxane beranggota delapan kompleks sebagai nukleusnya. Rantai samping 5 yang terkait dengan cincin taxane di C13 esensial karena memiliki aktivitas antikanker. Paclitaxel mengikat pada tubulin yang merupakan komponen protein mikrotubulus, sekaligus menginduksikan pembongkaran mikrotubulus dengan cara membentuk tubulin yang stabil dan tidak berfungsi. Stabilisasi mikrotubulus menghambat sel dalam fase M dari siklus sel, meng-inhibisi pembelahan sel dan menyebabkan kematian sel. (BCCA, 2018).

Stabilisasi mikrotubulus menghambat sel dalam fase M dari siklus sel, meng-inhibisi pembelahan sel dan menyebabkan kematian sel. Paclitaxel bertindak sebagai agen radiosensitisasi dengan cara memblokir sel pada fase G2 dan paclitaxel juga berfungsi sebagai immunosupresan (BCCA,2018).



**Gambar 2.6 Mekanisme Paclitaxel**

Keterangan : Paclitaxel dapat berikatan dengan TUBB1 Secara langsung dan spesifik tanpa melalui perantara protein lain.

Sumber : <http://stitch.embl.de/cgi/network.pl?taskId=FtID3OP1Inn4>

**2.4 Benalu Mangga**

Benalu mangga (Dendrophthoe pentandra L. Miq.) merupakan salah satu benalu yang mudah didapat di Indonesia karena wilayah Indonesia sebagian besar adalah dataran rendah dimana pohon mangga sangat cocok hidup di



dataran rendah. (Diantika L., *et al.* 2016). Benalu mangga sebelumnya sudah digunakan sebagai obat tradisional dan diketahui bahwa benalu mangga dapat berperan sebagai anti-inflamasi dan anti-kanker. (Endharti, *et al.* 2016)



**Gambar 2.7 Benalu Mangga**

Sumber : [https://www.japsonline.com/admin/php/uploads/335\\_pdf.pdf](https://www.japsonline.com/admin/php/uploads/335_pdf.pdf)

#### 2.4.1 Klasifikasi Benalu Mangga

Adapun klasifikasi ilmiah benalu mangga adalah sebagai berikut : Kingdom

: Plantae

Divisio : Magnoliophyta

Classis : Magnoliopsida Sub Classis : Rosidae

Ordo : Santalales

Familia : Loranthaceae

Genus : Dendrophthoe

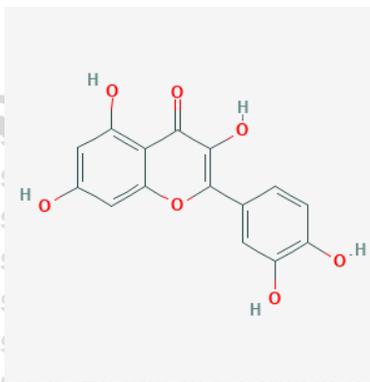
Species : Dendrophthoe pentandra (L.) Miq. (Backer and Van Den Brink, 1965)

#### 2.4.2 Kandungan Kimia Benalu Mangga

Kandungan kimia Benalu mangga secara umum mengandung flavonoid, kuersetin, mesoinositol, rutin, tanin (Ikawati dkk., 2008), kuinon, steroid dan triterpenoid (Fajriah dkk., 2007).

#### 2.5 Kuersetin

Kuersetin merupakan kandungan flavonoid utama dari ekstrak daun benalu mangga yang memiliki rumus molekul C<sub>15</sub>H<sub>10</sub>O<sub>7</sub> dengan berat molekul 302.238 g/mol (Pubchem, 2004). Kuersetin merupakan aglikon (tidak memiliki bagian karbohidrat) yang jika berikatan dengan glikonnya akan membentuk glikosida. Kuersetin memiliki 3 cincin dan 5 grup hidroksil (Lakhanpal dan Rai, 2007).



Gambar 2.8 Senyawa Kuersetin

Keterangan: Kuersetin merupakan kandungan utama flavonoid yang terdapat dalam ekstrak daun benalu mangga. Kuersetin dapat menjadi agen antikanker.

Sumber : <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

### 2.5.1 Sifat-Sifat Kuersetin

Kuersetin memiliki sifat kimia tidak larut dalam air dingin, kurang larut dalam air panas, namun larut dalam alkohol. Sedangkan sifat fisika dari molekul dengan rumus  $C_{15}H_{10}O_7$  ini adalah memiliki berat molekul 302,24 g/mol, berbentuk kristal berwarna kuning, dengan kelarutan 2 mg/ml dalam etanol (Putri, 2017)

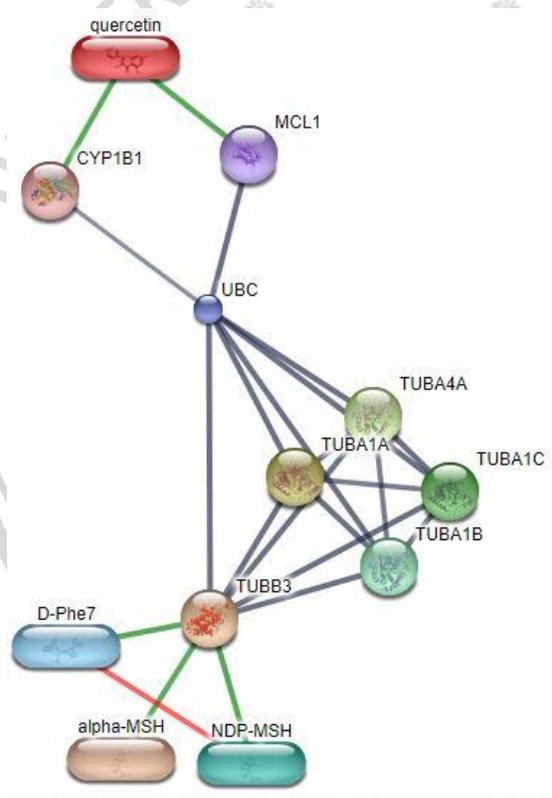
### 2.5.2 Mekanisme Kuersetin

Kuersetin menghambat proliferasi sel kanker dengan merusak struktur mikrotubulus seluler dan mengganggu fungsinya. Pengikatan kuersetin ke tubulin menginduksi perubahan konformasi dalam tubulin dan mekanisme di mana kuersetin dapat mengganggu dinamika polimerisasi mikrotubulus.

Kuersetin menghambat proliferasi sel kanker setidaknya sebagian dengan mengganggu fungsi mikrotubulus melalui pengikatan tubulin. Sehingga kuersetin pada benalu mangga diduga bisa menjadi agen ko-kemoterapi paclitaxel untuk pengobatan kanker payudara. Salah satu cara untuk mengukur potensi kuersetin sebagai agen ko-kemoterapi paclitaxel adalah dengan melakukan *molecular docking* (Panda, *et al.*, 2000).

### 2.5.3 Manfaat Kuersetin

Kuersetin memiliki banyak manfaat yang bisa dipakai oleh manusia dengan sebaik-baiknya. Adapun salah satu manfaat dari kuersetin adalah sebagai agen antikanker. Kuersetin memiliki sifat antikanker yang dapat menghambat pertumbuhan kanker diantaranya antiproliferatif, antioksidan, dan *growth factor suppression*. Kuersetin dapat bertindak sebagai agen antikarsinogenik poten dengan menginduksi proses apoptosis sehingga akan menekan pertumbuhan sel-sel yang abnormal (David *et al.*, 2016).



**Gambar 2.9 Mekanisme Kuersetin**

Keterangan : Untuk berikatan dengan TUBB3, quercetin harus berikatan dahulu dengan protein MCL1 (myeloid cell leukemia pada sequence 1) kemudian melalui protein UBC (ubiquitin C).

Sumber : <http://stitch.embl.de/cgi/network.pl?taskId=x8pt190su5Jp>



## 2.6 Kelas III beta-tubulin

Kelas III beta-tubulin adalah salah satu protein penting yang terkait dengan perakitan mikrotubulus, penting untuk banyak fungsi seluler termasuk respirasi mitokondria dan intraseluler trafficking. Ia juga sangat diekspresikan dalam berbagai macam tumor baik dari neuronal maupun non-neuronal. Ekspresi beta-tubulin kelas III dikontrol secara ketat pada berbagai tingkat dengan mekanisme regulasi bergantung jaringan. Misalnya, ekspresi beta-tubulin kelas III berada di bawah kendali estrogen dalam sel kanker payudara tetapi dipengaruhi oleh paparan hipoksia dan suplai nutrisi yang buruk pada kanker ovarium. Pada beberapa tetapi tidak semua kanker, ekspresi beta-tubulin kelas III murni merupakan biomarker prognostik, memprediksi hasil buruk pasien tanpa perawatan kemoterapi (Karki dan Ferlini, 2018).

### 2.6.1 Mekanisme Kelas III beta-tubulin pada Sel Kanker Payudara

Semakin banyak bukti menunjukkan ekspresi tinggi beta-tubulin kelas III dikaitkan dengan prognosis yang buruk dan agresivitas beberapa kanker termasuk kanker paru-paru non-sel kecil (NSCLC), payudara, ovarium, dan kanker lambung (Katsetos and Dráber, 2012; Katsetos) *et al.*, 2003). Namun, ada juga laporan ekspresi beta-tubulin kelas III dan hasil yang baik seperti yang dilaporkan pada kanker ovarium sel jelas dan kanker payudara reseptor estrogen negatif (Aoki *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2013).

Dalam kasus kanker ovarium dan payudara, hormon dapat memainkan peran penting dalam ekspresi dan regulasi beta-tubulin kelas III. Pada kanker payudara, ekspresi beta-tubulin kelas III berada di bawah kendali estrogen.

Hal ini ditunjukkan dalam penelitian di mana paparan estradiol terhadap sel kanker payudara, positif untuk reseptor estrogen (ER), meningkatkan mRNA TUBB3 dan protein beta-tubulin kelas III. Namun, dalam sel negatif untuk ER seperti MDA-MB-231, tidak ada induksi seperti yang diamati (Saussede-Aim *et al.*, 2009).

Evaluasi beta-tubulin kelas III untuk memprediksi tanggapan dan hasil pada kanker payudara triple-negatif akan menarik karena kanker payudara ini tidak memiliki efek oleh ER dan hormon lainnya. Sebuah penelitian terbaru di Lancet telah menunjukkan bahwa paparan tingkat tinggi estradiol dan progesteron yang ditemukan pada pasien kanker payudara dan ovarium terkait dengan mutasi BRCA1 / BRCA2 (Widschwendter *et al.*, 2013).

Dalam studi terjemahan baru-baru ini kanker payudara ER negatif, kelas III beta-tubulin ditemukan berkorelasi dengan respon patogenik yang baik terhadap kemoterapi, menunjukkan protein mungkin diidentifikasi secara berbeda dalam bagian tertentu dari kanker payudara (Wang *et al.*, 2013).

Oleh karena itu, tidak mengherankan bahwa protein ini, ketika diambil sebagai agen tunggal, bahkan dapat menjadi ciri dari hasil yang baik, seperti yang terlihat pada kanker payudara positif estrogen (Gao *et al.*, 2011).

## 2.7 Metode Insilico

### 2.7.1 Metode Docking

*Molecular docking* adalah suatu teknik yang digunakan untuk mempelajari interaksi yang terjadi dari suatu kompleks molekul. *Molecular docking* dapat memprediksi orientasi dari suatu molekul ke molekul yang lain ketika berikatan membentuk kompleks yang stabil. Terdapat dua aspek penting dalam *molecular docking*, yaitu fungsi scoring dan penggunaan algoritma (Funkhouser, 2007).

Metode untuk mencari posisi optimal ligan terhadap sisi aktif pengikatan dari struktur target (reseptor). *Molecular docking* dapat memprediksi afinitas pengikatan kompleks yang terbentuk antara reseptor dengan ligan menggunakan berbagai parameter seperti *argo binding*, konstanta *inhibitor*, ikatan hidrogen dan kontak hidrofobik. *Molecular docking* sangat berguna dalam proses perancangan obat, seperti untuk memprediksi afinitas pengikatan dari inhibitor yang didesain terhadap enzim tertentu yang ingin dihambat aktivitasnya (Yeteru dan Nagasuma, 2008).

Fungsi scoring dapat memperkirakan afinitas ikatan antara makromolekul dengan ligan (molekul kecil yang memiliki afinitas terhadap makromolekul). Identifikasi ini didasarkan pada beberapa teori seperti teori energi bebas Gibbs. Nilai energi bebas Gibbs yang kecil menunjukkan bahwa konformasi yang terbentuk stabil, sedangkan nilai energi bebas Gibbs yang besar menunjukkan bahwa konformasi yang terbentuk stabil, sedangkan nilai energi bebas Gibbs yang besar menunjukkan bahwa konformasi yang terbentuk kurang atau tidak stabil. Sedangkan penggunaan algoritma berperan dalam

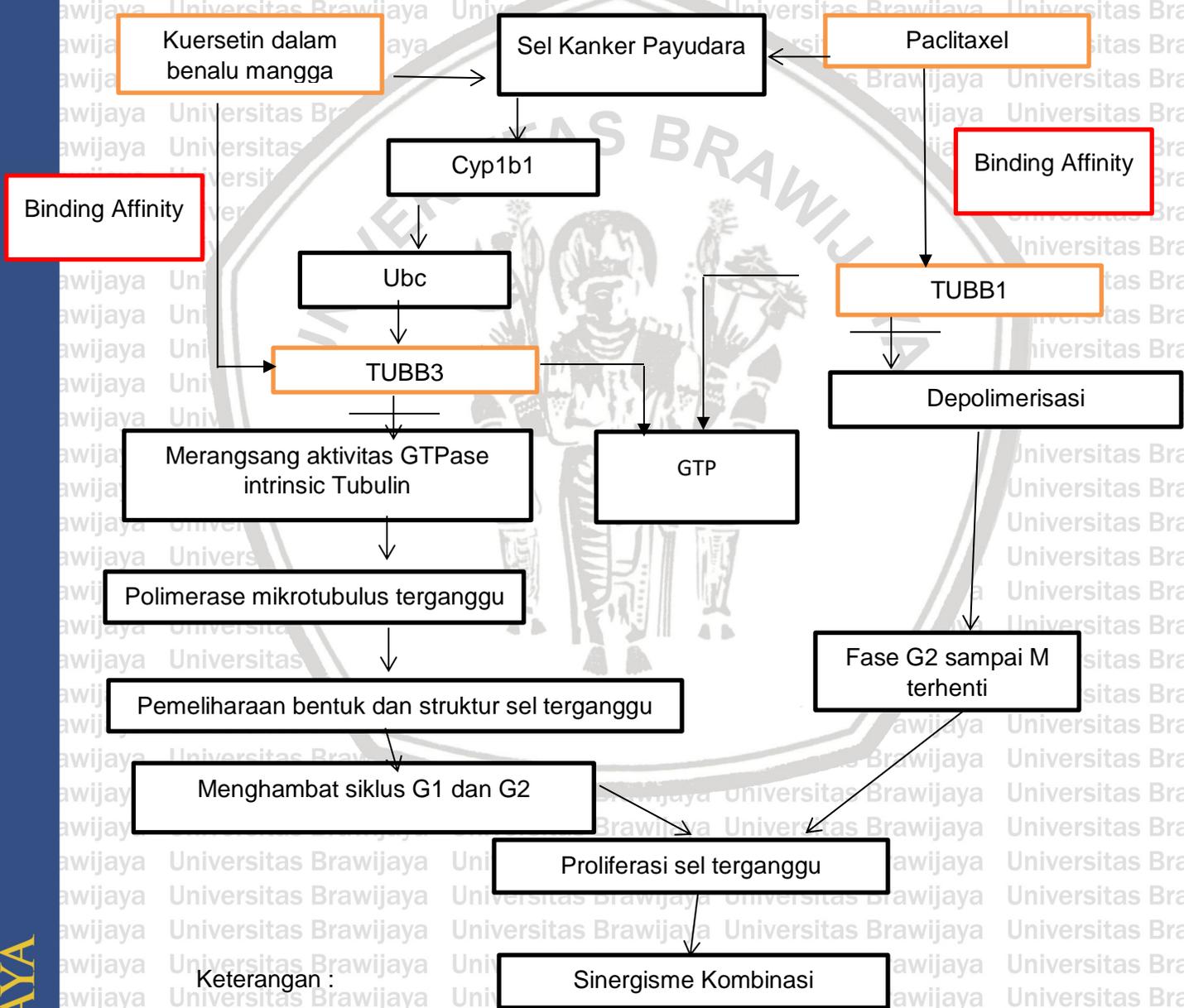
penentuan konformasi (*docking pose*) yang stabil (*favourable*) dari pembentukan kompleks (Funkhouser, 2007).

Berdasarkan interaksi yang terjadi, terdapat beberapa jenis *molecular docking*, yaitu : (1) Docking protein-protein, (2) Docking ligan-protein, dan (3) Docking ligan- DNA. Untuk *molecular docking*, hal pertama yang dibutuhkan adalah struktur tiga dimensi dari ligan (drug) dan protein target. Struktur tiga dimensi ligan dimodelkan dengan menggunakan teknik *molecular modeling* sedangkan struktur tiga dimensi protein target dapat ditentukan secara empiris dengan menggunakan teknik *NMR spectroscopy* dan *x-ray crystallography* yang terdapat pada database protein data bank dan secara *insilico* dengan *homology modeling* (Lucientes, 2004).

### BAB 3

## KERANGKA KONSEP dan HIPOTESIS PENELITIAN

### 3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Keterangan :  
[ ] : diteliti



[ ] : tidak diteliti

### 3.2 Deskripsi Kerangka Konsep

Kuersetin flavonoid memiliki berbagai aktivitas biologis, termasuk aktivitas antitumor yang poten terhadap beberapa jenis tumor. Kuersetin menghambat proliferasi sel kanker dengan merusak struktur mikrotubulus seluler dan mengganggu fungsinya. Kuersetin menghambat polimerisasi mikrotubulus dan mikrotubulus depolimerisasi yang terbuat dari tubulin murni in vitro.

Selain itu, kuersetin mengganggu struktur sekunder tubulin, dan pengikatan kuersetin merangsang aktivitas GTPase intrinsik dari tubulin terlarut. Selanjutnya, kuersetin menstabilkan tubulin terhadap pembusukan.

Pengikatan kuersetin ke tubulin menginduksi perubahan konformasi dalam tubulin dan mekanisme di mana kuersetin dapat mengganggu dinamika polimerisasi mikrotubulus. Kuersetin menghambat proliferasi sel kanker setidaknya sebagian dengan mengganggu fungsi mikrotubulus melalui pengikatan tubulin.

Ekspresi TUBB3 dikontrol secara ketat pada berbagai tingkat dengan mekanisme regulasi tergantung jaringannya. Misalnya, ekspresi TUBB3 berada di bawah kendali estrogen dalam sel kanker payudara.

Paclitaxel bekerja dengan menginduksi pembentukan mikrotubulus yang stabil dan tidak aktif sehingga menghambat penguraiannya menjadi tubulin dan menyebabkan sel akan terhenti pada fase G2 sampai fase M. Dari proses tersebut akan terjadi hambatan proliferasi sel. Stabilisasi mikrotubulus menghambat sel dalam fase M dari siklus sel, meng-inhibisi pembelahan sel dan menyebabkan kematian sel.

### 3.3 Hipotesis Penelitian

Kuersetin dalam ekstrak daun benalu mangga memiliki potensi ikatan yang baik dengan TUBB3 sehingga berpotensi untuk menjadi agen kokemoterapi paclitaxel untuk pengobatan kanker payudara.



**BAB 4****METODE PENELITIAN****4.1 Rancangan Penelitian**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang mengambil sample dari database *PubChem* dan *Uniprot*, yang bertujuan untuk mengetahui daya ikatan kuersetin dalam benalu mangga dengan TUBB3 serta daya ikatan paclitaxel dengan TUBB1 pada struktur sel yang nantinya diharapkan dapat berfungsi sebagai terapi kombinasi untuk kanker payudara.

**4.2 Populasi dan Sampel****4.2.1 Populasi**

Populasi penelitian ini adalah struktur molekul TUBB3 dan TUBB1 yang datanya didapatkan dari database PDB.

**4.2.2. Sampel**

Sampel penelitian ini adalah struktur molekul kuersetin serta GTP sebagai ligan kontrol, yang datanya didapatkan dari database PDB, dan paclitaxel yang didapatkan dari database PubChem.

**4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Ruang Ketahanan Jurnal Universitas Brawijaya dan Laboratorium Biokomputasi FMIPA UB pada bulan Juni 2019-September 2019.

#### 4.4 Identifikasi Variabel

##### 4.4.1 Variabel Tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah afinitas ikatan kuersetin dengan TUBB3, GTP dengan TUBB3, paclitaxel dengan TUBB1 dan GTP dengan TUBB1.

##### 4.4.2 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah jenis ligan dan target yang digunakan, yaitu kuersetin dan paclitaxel sebagai ligan, serta TUBB3 dan TUBB1 sebagai target.

#### 4.5 Definisi operasional

- Kuersetin adalah salah satu jenis flavonoid yang merupakan senyawa aglikon yang dapat membentuk ikatan glikogen dengan pasangan glikolnya. Bentuk kompleks glikogen (*kuersetin glycoside*) lebih larut dalam air daripada kuersetin sebagai aglikon (Putri, 2017). Data struktur kuersetin yang terdapat dalam daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) didapatkan dari *database* PubChem.
- TUBB 3 adalah salah satu protein penting yang terkait dengan perakitan mikrotubulus. Peran TUBB 3 penting untuk banyak fungsi seluler yaitu respirasi mitokondria. Protein ini juga diekspresikan dalam berbagai macam tumor baik dari neuronal maupun non-neuronal (Karki dan

Ferlini, 2014). Data struktur TUBB3 didapatkan dari database rscb.

- *Molecular docking* adalah studi yang mempelajari bagaimana dua atau lebih struktur molekul dapat berikatan satu sama lain yang diukur dengan *binding affinity* yang memiliki satuan kcal/mol menggunakan *software* PyRx 0.9 (Dallakyan dan Olson, 2015).
- *Binding affinity* adalah kekuatan interaksi antara ligan/obat dan protein/reseptornya. Nilai *binding affinity* berbanding terbalik dengan potensinya (Salahudeen dan Nishtala, 2016). Semakin negatif nilai *binding affinity*, semakin kuat pula ikatan dan potensinya dalam memberikan efek pada tubuh (Das *et al.*, 2016).

## 4.6 Alat dan Bahan Penelitian

### 4.6.1 Alat untuk Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah perangkat keras berupa satu set laptop dengan spesifikasi: Processor tipe Intel® inside™ CORE i3, RAM 2GB, dan harddisk 500 GB. Perangkat lunak yang dibutuhkan adalah PASS Server *online* (<http://www.pharmaexpert.ru/passonline>), STITCH (<http://stitch.embl.de/>), PyRx 0.9, PyMOL 2.0.6, Ligplot 1.4.5.

### 4.6.2 Bahan untuk Penelitian

- a. Struktur tiga dimensi kuersetin (didapat dari <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/search/search.cgi>)
- b. Struktur tiga dimensi protein TUBB 3 (didapat dari <https://www.rcsb.org/>)

c. Struktur tiga dimensi paclitaxel

(didapat dari <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/search/search.cgi>).

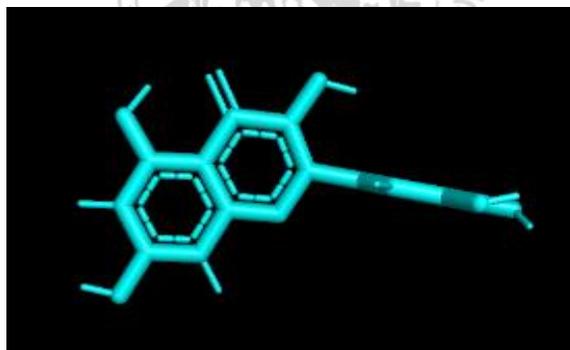
d. Struktur tiga dimensi protein TUBB 1

(didapat dari <https://www.rcsb.org/>)

## 4.7 Prosedur Penelitian

### 4.7.1 Pencarian dan Preparasi Data Kuersetin

Data struktur kuersetin diambil dari PubChem melalui situs <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5280343#section=Top> dalam struktur 3 dimensi yang disimpan dalam format “.sd”. Selanjutnya dikonversikan dalam format “.pdb” dengan aplikasi PyMOL 2.0.6.



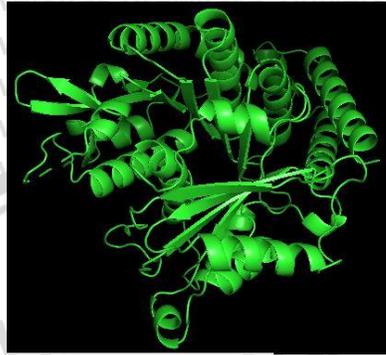
**Gambar 4.1 Struktur 3 Dimensi Kuersetin**

Keterangan: Gambar ini adalah struktur 3 dimensi dari kuersetin yang diambil dari database PubChem. Kuersetin adalah salah satu senyawa yang ada pada ekstrak etanol daun benalu mangga yang berpotensi sebagai antikanker.

### 4.7.2 Pencarian dan Preparasi Data TUBB3

Struktur tiga dimensi TUBB 3 yang masih berikatan dengan obat dalam format .pdb diunduh dari <http://www.uniprot.org/uniprot/P17612>. Setelah itu

struktur dipisah dengan struktur tiga dimensi ligan kontrol menggunakan aplikasi PyMOL 2.0.6 dalam format .pdb

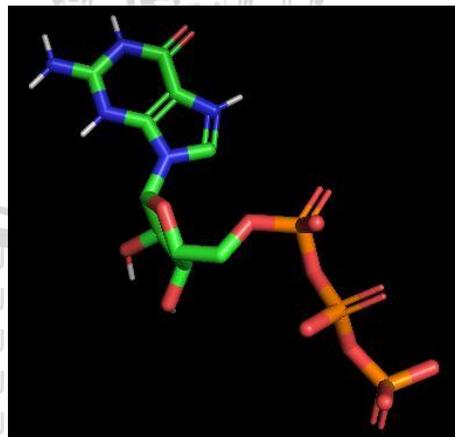


**Gambar 4.2 Struktur 3 Dimensi TUBB3**

Keterangan: Gambar ini adalah struktur 3 dimensi dari tubb3 yang diambil dari database rscb. TUBB 3 adalah protein penting terkait perakitan mikrotubulus pada sel.

#### 4.7.3 Pencarian dan Preparasi Data GTP

Struktur tiga dimensi GTP yang masih berikatan dengan tubulin dalam format .pdb diunduh dari <http://www.uniprot.org/uniprot/P17612>. Setelah itu struktur dipisah dengan struktur tiga dimensi tubulin menggunakan aplikasi PyMOL 2.0.6 dalam format .pdb



**Gambar 4.3 Struktur 3 Dimensi GTP**

Keterangan: Gambar ini adalah struktur 3 dimensi dari GTP yang diambil dari database rscb. GTP adalah ligan kontrol dari tubulin.

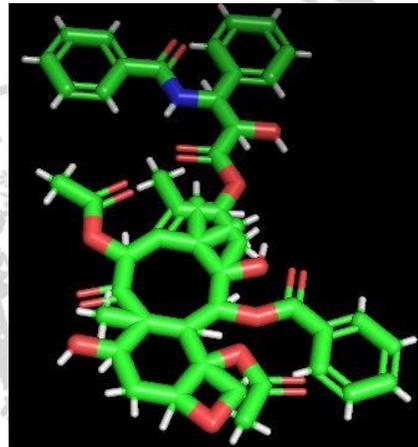
#### 4.7.4 Pencarian dan Preparasi Data Paclitaxel

Data struktur paclitaxel diambil dari PubChem melalui situs

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5280343#section=Top> dalam struktur 3

dimensi yang disimpan dalam format “.sdf”. Selanjutnya dikonversikan dalam format

“.pdb” dengan aplikasi PyMOL 2.0.6.



**Gambar 4.4 Struktur 3 Dimensi Paclitaxel**

Keterangan: Gambar ini adalah struktur 3 dimensi dari paclitaxel yang diambil dari database PubChem. Paclitaxel adalah salah satu obat untuk kemoterapi kanker payudara.

#### 4.7.5 Pencarian dan Preparasi Data TUBB1

Struktur tiga dimensi TUBB1 yang masih berikatan dengan obat dalam format .pdb diunduh dari <http://www.uniprot.org/uniprot/P17612>. Setelah itu struktur dipisah dengan struktur tiga dimensi ligan kontrol menggunakan aplikasi PyMOL 2.0.6 dalam format .pdb



#### Gambar 4.5 Struktur 3 Dimensi TUBB1

Keterangan: Gambar ini adalah struktur 3 dimensi dari TUBB1 yang diambil dari database rscb. TUBB1 adalah protein penting terkait perakitan mikrotubulus pada sel yang juga merupakan sebagai target dari obat paclitaxel.

#### 4.7.6 Proses *Docking* TUBB1 dengan Paclitaxel

*Docking* dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak PyRx 0.9 yang diunduh melalui situs <https://pyrx.sourceforge.io/downloads>. *Docking* protein merupakan teknik biokomputasi untuk menggambarkan suatu interaksi antara molekul senyawa dengan reseptor. Dengan menggunakan teknik biokomputasi *docking*, didapatkan permodelan struktur yang akurat dan prediksi afinitas ikatan yang tepat. Langkah-langkah yang dilakukan dalam proses *docking* dengan menggunakan perangkat lunak PyRx 0.9 adalah sebagai berikut:

1. Program PyRx 0.9 dibuka.
2. Vina Wizard dipilih untuk melakukan proses *docking* dengan Autodock Vina.

3. File diklik kemudian load molecule pada bagian vina wizard untuk memasukkan struktur tiga dimensi TUBB1 dalam format pdb. Kemudian TUBB1 diklik kanan lalu autodock dipilih kemudian "make macromolecule".
4. File diklik kemudian load molecule dan paclitaxel dipilih dalam format pdb kemudian paclitaxel diklik kanan lalu autodock dipilih kemudian "make ligand"
5. Start dipilih
6. Add ligand kemudian paclitaxel diklik
7. Add macromolecule kemudian TUBB1 diklik
8. Pada bagian autodock, pada setiap struktur diklik kanan, setelah itu "display" diklik sehingga semua struktur makromolekul dan ligan terlihat pada ruang "3D scene".
9. Forward diklik pada bagian kanan bawah vina wizard, setelah itu grid box disesuaikan dengan posisi sisi pengikatan dari ligan kontrol pada "3D scene" sehingga semua sisi dari ligan kontrol terletak pada area reaksi yang tepat dalam kubus (*specific docking*).
10. Setelah semua letak ligan sesuai, "run vina" diklik untuk proses *docking* dan tunggu sampai proses selesai.
11. Hasil *docking* diklik pada navigator lalu diklik kanan kemudian "save as PDB" untuk menyimpan gambar struktur kompleks hasil *docking* antara TUBB1 dengan paclitaxel.
12. Save as sdf diklik pada kolom control untuk menyimpan hasil binding

affinity yang sudah dalam bentuk excel (.csv).

#### 4.7.7 Proses *Docking* TUBB1 dengan GTP

Hal yang sama dilakukan seperti cara *docking* TUBB1 dengan paclitaxel, hanya saja ligan nya diganti. Langkah-langkah yang dilakukan dalam proses *docking* dengan menggunakan perangkat lunak PyRx 0.9 adalah sebagai berikut:

1. Program PyRx 0.9 dibuka.
2. Vina Wizard dipilih untuk melakukan proses *docking* dengan Autodock Vina.
3. File diklik kemudian load molecule pada bagian vina wizard untuk memasukkan struktur tiga dimensi TUBB1 dalam format pdb. Kemudian TUBB1 diklik kanan lalu autodock dipilih kemudian "make macromolecule".
4. File diklik kemudian load molecule dan GTP dipilih dalam format pdb kemudian paclitaxel diklik kanan lalu autodock dipilih kemudian "make ligand"
5. Start dipilih
6. Add ligand kemudian GTP diklik
7. Add macromolecule kemudian TUBB1 diklik
8. Pada bagian autodock, pada setiap struktur diklik kanan, setelah itu "display" diklik sehingga semua struktur makromolekul dan ligan

terlihat pada ruang "3D scene".

9. Forward diklik pada bagian kanan bawah vina wizard, setelah itu grid box disesuaikan dengan posisi sisi pengikatan dari ligan kontrol pada "3D scene" sehingga semua sisi dari ligan kontrol terletak pada area reaksi yang tepat dalam kubus (*specific docking*).
10. Setelah semua letak ligan sesuai, "run vina" diklik untuk proses *docking* dan tunggu sampai proses selesai.
11. Hasil *docking* diklik pada navigator lalu diklik kanan kemudian "save as PDB" untuk menyimpan gambar struktur kompleks hasil *docking* antara TUBB1 dengan GTP.
12. Save as sdf diklik pada kolom control untuk menyimpan hasil binding affinity yang sudah dalam bentuk excel (.csv).

#### 4.7.8 Proses *Docking* TUBB3 dengan Kuersetin

1. Program PyRx 0.9 dibuka.
2. Vina Wizard dipilih untuk melakukan proses *docking* dengan Autodock Vina.
3. File diklik kemudian load molecule pada bagian vina wizard untuk memasukkan struktur tiga dimensi TUBB3 dalam format pdb. Kemudian TUBB3 diklik kanan lalu autodock dipilih kemudian "make macromolecule".
4. File diklik kemudian load molecule dan kuersetin dipilih dalam format pdb kemudian paclitaxel diklik kanan lalu autodock dipilih kemudian

- “make ligand”
5. Start dipilih
  6. Add ligand kemudian kuersetin diklik
  7. Add macromolecule kemudian TUBB3 diklik
  8. Pada bagian autodock, pada setiap struktur diklik kanan, setelah itu “display” diklik sehingga semua struktur makromolekul dan ligan terlihat pada ruang “3D scene”.
  9. Forward diklik pada bagian kanan bawah vina wizard, setelah itu grid box disesuaikan dengan posisi sisi pengikatan dari ligan kontrol pada “3D scene” sehingga semua sisi dari ligan kontrol terletak pada area reaksi yang tepat dalam kubus (*specific docking*).
  10. Setelah semua letak ligan sesuai, “run vina” diklik untuk proses *docking* dan tunggu sampai proses selesai.
  11. Hasil *docking* diklik pada navigator lalu diklik kanan kemudian “save as PDB” untuk menyimpan gambar struktur kompleks hasil *docking* antara TUBB3 dengan kuersetin.
  12. Save as sdf diklik pada kolom control untuk menyimpan hasil binding affinity yang sudah dalam bentuk excel (.csv).

#### 4.7.9 Proses *Docking* TUBB3 dengan GTP

1. Program PyRx 0.9 dibuka.
2. Vina Wizard dipilih untuk melakukan proses *docking* dengan Autodock Vina.
3. File diklik kemudian load molecule pada bagian vina wizard untuk

memasukkan struktur tiga dimensi TUBB3 dalam format pdb.

Kemudian TUBB3 diklik kanan lalu autodock dipilih kemudian "make macromolecule".

4. File diklik kemudian load molecule dan GTP dipilih dalam format pdb kemudian GTP diklik kanan lalu autodock dipilih kemudian "make ligand"

5. Start dipilih

6. Add ligand kemudian GTP diklik

7. Add macromolecule kemudian TUBB3 diklik

8. Pada bagian autodock, pada setiap struktur diklik kanan, setelah itu "display" diklik sehingga semua struktur makromolekul dan ligan terlihat pada ruang "3D scene".

9. Forward diklik pada bagian kanan bawah vna wizard, setelah itu grid box disesuaikan dengan posisi sisi pengikatan dari ligan kontrol pada "3D scene" sehingga semua sisi dari ligan kontrol terletak pada area reaksi yang tepat dalam kubus (specific *docking*).

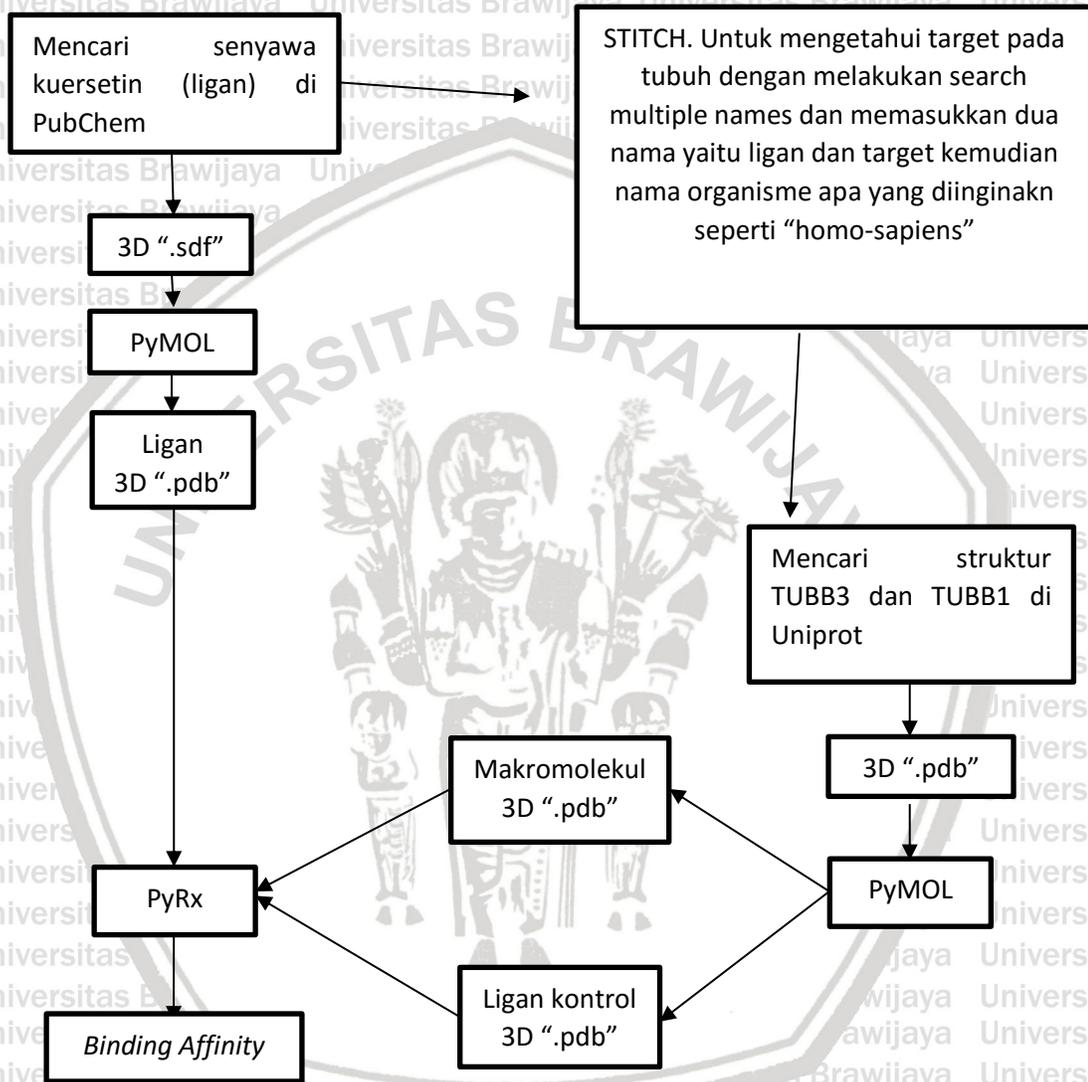
10. Setelah semua letak ligan sesuai, "run vina" diklik untuk proses *docking* dan tunggu sampai proses selesai.

11. Hasil *docking* diklik pada navigator lalu diklik kanan kemudian "save as PDB" untuk menyimpan gambar struktur kompleks hasil *docking* antara TUBB3 dengan GTP.

12. Save as sdf diklik pada kolom control untuk menyimpan hasil

binding affinity yang sudah dalam bentuk excel (.csv).

#### 4.8 Alur Penelitian



#### 4.9 Analisis Data

Hasil akhir yang didapat dari *docking* menggunakan PyRX 0.8 adalah afinitas ikatan (*binding affinity*) ligan-makromolekul. Nilai negatif pada *binding affinity* menunjukkan ikatan antara ligan dan makromolekul. Semakin negatif nilai *binding affinity*, semakin baik prediksi ikatan antara ligan dan



makromolekul. Nilai normal binding affinity adalah  $-7,3$  kcal/mol. Suatu *binding affinity* dikatakan kuat ikatannya apabila *score binding affinity*  $\leq -7,3$  kcal/mol. (Dallakyan dan Olson, 2015)



## BAB 5

### HASIL PENELITIAN

#### 5.1 Hasil *Binding Affinity Molecular Docking*

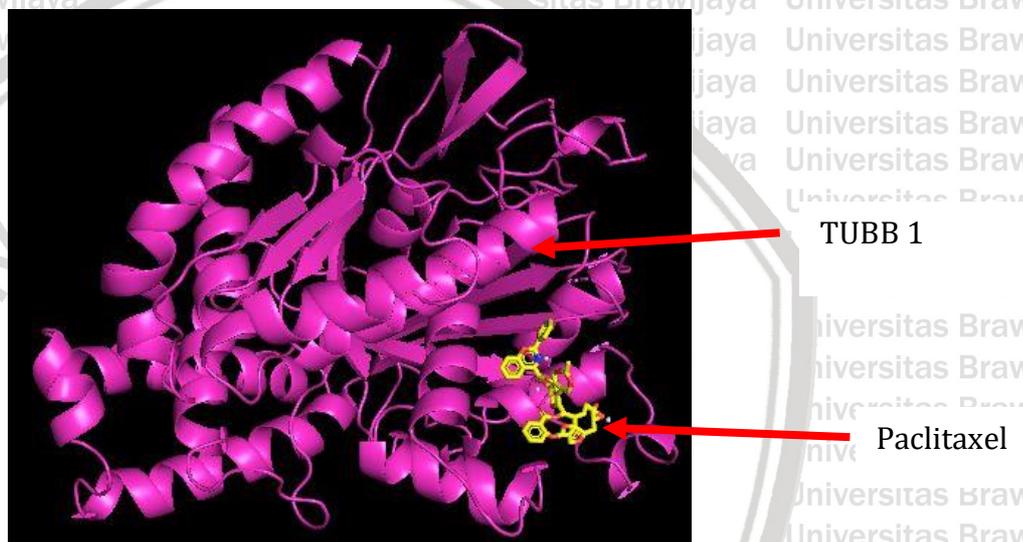
##### 5.1.1 Hasil *Binding Affinity Paclitaxel dengan TUBB1*

*Molecular docking* merupakan suatu prosedur komputasi yang digunakan untuk menggambarkan sebuah interaksi dari sebuah ligan dan targetnya. *Molecular docking* berguna untuk memprediksikan sisi aktif suatu ligan pada reseptor target dan seberapa kuat ikatan suatu ligan yang biasanya adalah obat dengan targetnya di tubuh manusia. Sehingga *molecular docking* dapat dijadikan tahap awal percobaan sebelum selanjutnya diujikan di laboratorium.

Penelitian ini diawali dengan mengambil protein target TUBB1 yang masih berikatan dengan ligan kontrol yaitu GTP. Kemudian ligan kontrol GTP yang masih menempel pada TUBB1 dipisahkan dengan menggunakan aplikasi PyMOL v.2.0.6. Kemudian setelah TUBB1, GTP, dan paclitaxel sudah menjadi molekul yang berdiri sendiri dan sudah dalam format “.pdb” maka sudah siap untuk dilakukan proses docking dengan menggunakan aplikasi PyRx 0.9.

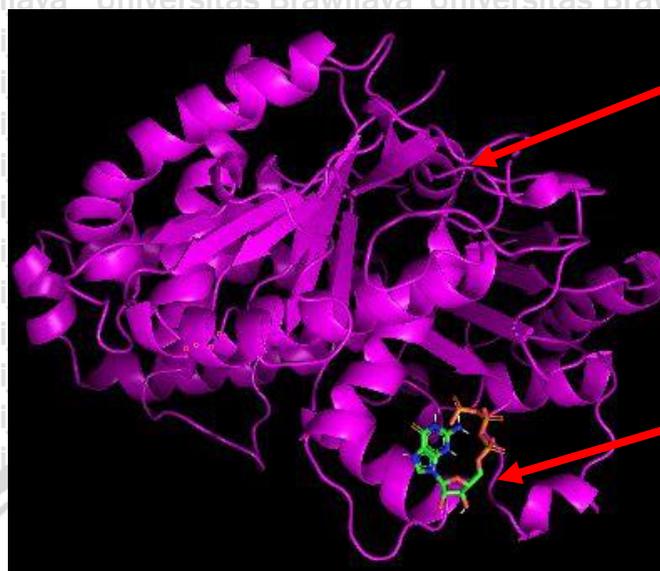
Berdasarkan proses *docking* yang telah dilakukan, didapatkan nilai *binding affinity* antara TUBB1 dengan paclitaxel adalah  $-11.8$  kkal/ mol. Sedangkan nilai *binding affinity* TUBB1 dengan ligan kontrol GTP adalah sebesar  $-6,1$  kkal/mol. Nilai *binding affinity* yang diambil merupakan nilai yang tertinggi setelah dilakukan 9x pengulangan dengan hasil yang dilampirkan. Dari data tersebut didapatkan nilai *binding affinity* yang baik

antara TUBB1 dengan paclitaxel karena sudah melampaui nilai normal yaitu  $< -7.3$  kkal/mol sedangkan antara TUBB1 dengan GTP kurang baik karena kurang dari nilai normal. Nilai *binding affinity* antara TUBB1 dengan paclitaxel lebih tinggi daripada nilai *binding affinity* antara TUBB1 dengan GTP. Paclitaxel berpotensi dalam menghambat GTP berikatan dengan TUBB1 sehingga menjadi kompetitor GTP berikatan dengan TUBB1.



**Gambar 5.1 Struktur Antarmolekul Kompleks Paclitaxel dengan TUBB1**

Keterangan: Struktur dengan warna kuning adalah ligan paclitaxel dan struktur yang berwarna ungu adalah makromolekul TUBB 1.



**Gambar 5.2 Struktur Antarmolekul Kompleks TUBB1 dengan GTP**

Keterangan: Struktur dengan warna hijau adalah ligan GTP dan struktur yang berwarna ungu adalah makromolekul TUBB 1.

**Tabel 5.1 Nilai *Binding Affinity* TUBB1 dengan Ligan**

Ligan yang Berikatan dengan TUBB1	<i>Binding Affinity</i> (kkal/ mol)
Paclitaxel	-11.8
GTP (ligan kontrol)	-6.1

Keterangan: Nilai yang ada pada tabel diperoleh dengan cara melakukan *docking* melalui aplikasi PyRx 0.9. Didapatkan nilai *binding affinity* antara TUBB 1 dan palitaxel sebesar -11.8 kkal/mol dan juga nilai *binding affinity* antara TUBB 1 dan GTP sebesar -6.1 kkal/mol.

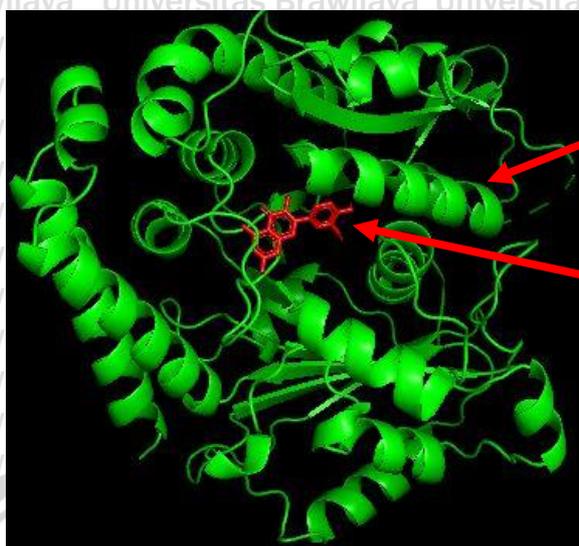
**5.1.2 Hasil *Binding Affinity* Kuersetin dengan TUBB3**

Penelitian ini dilakukan sama seperti yang telah dilakukan antara TUBB1 dengan ligan GTP dan paclitaxel, pada proses ini dimulai dengan mengambil protein target TUBB3 yang masih berikatan dengan ligan kontrol yaitu GTP. Kemudian ligan kontrol GTP yang masih menempel



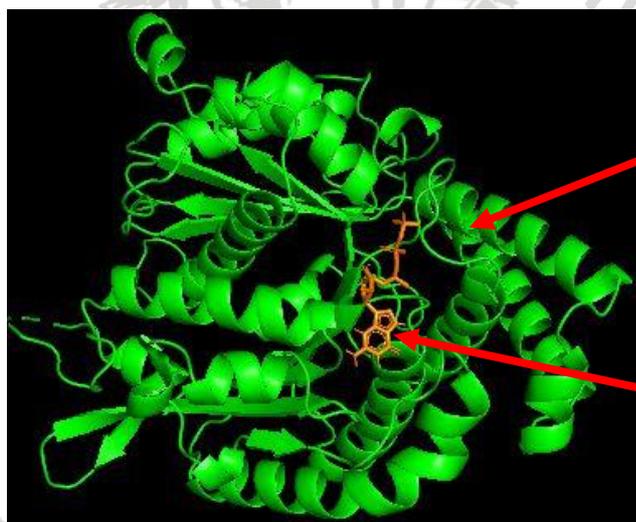
pada TUBB3 dipisahkan dengan menggunakan aplikasi PyMOL v.2.0.6 yang selanjutnya akan dijadikan sebagai ligan pembanding dengan kuersetin. Kemudian setelah TUBB3, GTP, dan kuersetin sudah menjadi molekul yang berdiri sendiri dan sudah dalam format ".pdb" maka sudah siap untuk dilakukan proses docking dengan menggunakan aplikasi PyRx 0.9.

Berdasarkan proses *docking* yang telah dilakukan, didapatkan nilai *binding affinity* antara TUBB3 dengan kuersetin adalah -9.4 kkal/ mol. Sedangkan nilai *binding affinity* TUBB3 dengan ligan kontrol GTP adalah sebesar -8.9 kkal/mol. Nilai *binding affinity* yang diambil merupakan nilai yang tertinggi setelah dilakukan 9x pengulangan dengan hasil yang dilampirkan. Dari data nilai tersebut didapatkan bahwa nilai *binding affinity* baik antara TUBB3 dengan kuersetin maupun TUBB3 dengan GTP sama-sama memiliki nilai yang sangat baik karena sudah melampaui batas nilai normal yaitu <-7.3 kkal/mol. Nilai *binding affinity* antara TUBB3 dengan kuersetin lebih tinggi daripada nilai *binding affinity* antara TUBB3 dengan GTP. Kuersetin berpotensi dalam menghambat GTP berikatan dengan TUBB3 sehingga menjadi kompetitor GTP berikatan dengan TUBB3.



**Gambar 5.3 Struktur Antarmolekul Kompleks Kuersetin dengan TUBB3**

Keterangan: Struktur yang berwarna merah adalah ligan kuersetin dan struktur yang berwarna hijau adalah makromolekul TUBB 3.



**Gambar 5.4 Struktur Antarmolekul Kompleks TUBB3 dengan GTP**

Keterangan: Struktur warna jingga adalah ligan GTP dan struktur yang berwarna hijau adalah makromolekul TUBB 3.

**Tabel 5.2 Nilai *Binding Affinity* TUBB3 dengan Ligan**

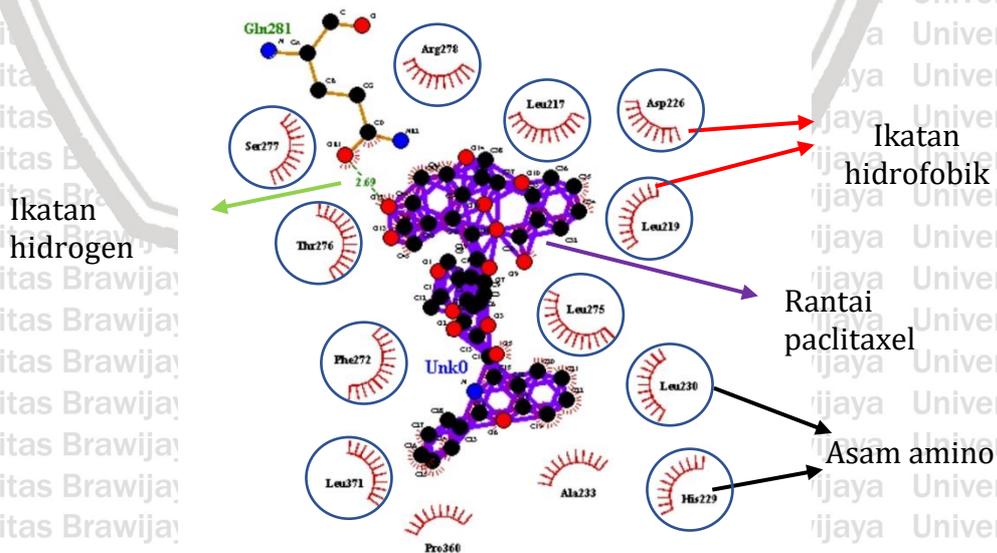
Ligan yang Berikatan dengan Makromolekul TUBB3	<i>Binding Affinity</i> (kcal/ mol)
Kuersetin	-9.4
GTP (Ligan control)	-8.9

Keterangan: Nilai yang ada pada tabel diperoleh dengan cara melakukan *docking* melalui aplikasi PyRx 0.9. Didapatkan nilai *binding affinity* antara TUBB3 dan kuersetin sebesar -9.4 kkal/mol dan juga nilai *binding affinity* antara TUBB3 dan GTP sebesar -8.9 kkal/mol.

## 5.2 Hasil Visualisasi *Molecular Docking*

### 5.2.1 Hasil Visualisasi *Molecular Docking* TUBB1 dengan Ligan

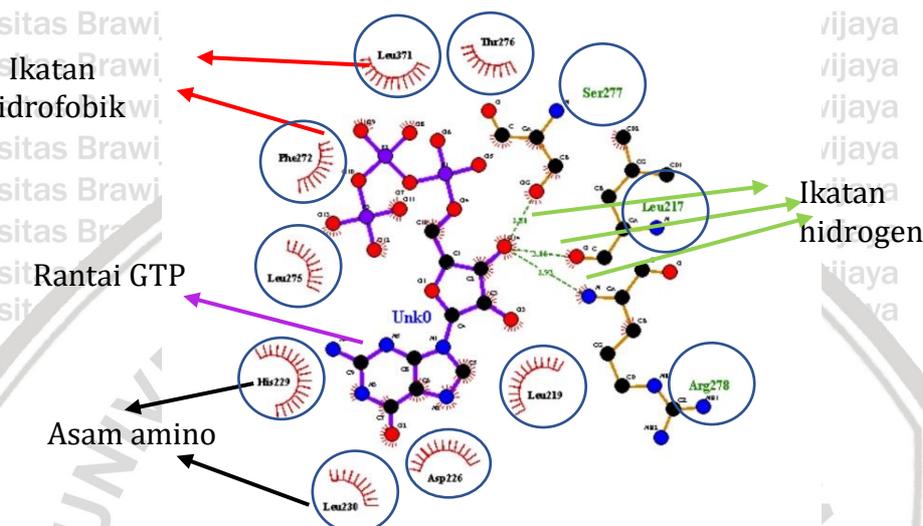
Setelah selesai uji *in silico* (*molecular docking*), ikatan antarmolekul antara TUBB3 dengan kuersetin, TUBB3 dengan GTP, paclitaxel dengan TUBB1 dan TUBB1 dengan GTP divisualisasikan menggunakan aplikasi Ligplot+ v.1.4.5 untuk mengetahui baik adanya ikatan hidrofobik, hidrogen, maupun asam amino dari kompleks antarmolekul tersebut dan dibandingkan dengan obat kontrolnya.



**Gambar 5.5 Visualisasi Ikatan Hidrogen, Hidrofobik, dan Asam Amino Antara TUBB1 dan paclitaxel**



Keterangan: Rantai berwarna ungu ditengah adalah rantai paclitaxel. Sedangkan yang disekitarnya merupakan bagian dari reseptor TUBB1. Ikatan yang ditunjukkan dengan garis putus-putus berwarna hijau merupakan ikatan hidrogen. Garis-garis merah setengah lingkaran menunjukkan adanya ikatan hidrofobik. Sedangkan lingkaran biru yang mengelilingi asam amino merupakan ikatan dengan asam amino yang pada dengan kompleks TUBB1 dengan GTP. Kompleks ikatan antara paclitaxel dengan TUBB1 memiliki 14 asam amino yaitu Ala233, Arg278, Asp226, Gln281, His229, Leu217, Leu219, Leu230, Leu275, Leu 371, Phe272, Pro360, Ser277, dan Thr276.



**Gambar 5.6 Visualisasi Ikatan Hidrogen, Hidrofobik, dan Asam Amino antara TUBB1 dan GTP.**

Keterangan: Rantai berwarna ungu ditengah adalah rantai GTP. Sedangkan yang disekitarnya merupakan bagian dari reseptor TUBB1. Ikatan yang ditunjukkan dengan garis putus-putus berwarna hijau merupakan ikatan hidrogen. Garis-garis merah setengah lingkaran menunjukkan adanya ikatan hidrofobik. Sedangkan lingkaran biru yang mengelilingi asam amino merupakan ikatan dengan asam amino yang sama pada kompleks TUBB1 dengan paclitaxel. Kompleks ikatan antara TUBB1 dengan GTP memiliki 11 ikatan asam amino yaitu Arg278, Asp226, His229, Leu217, Leu219, Leu230, Leu275, Leu371, Phe272, Ser277, dan Thr276.

**g Ikatan Hidrogen dan Hidrofobik Antara TUBB1 dengan Ligan dan Asam Amino**

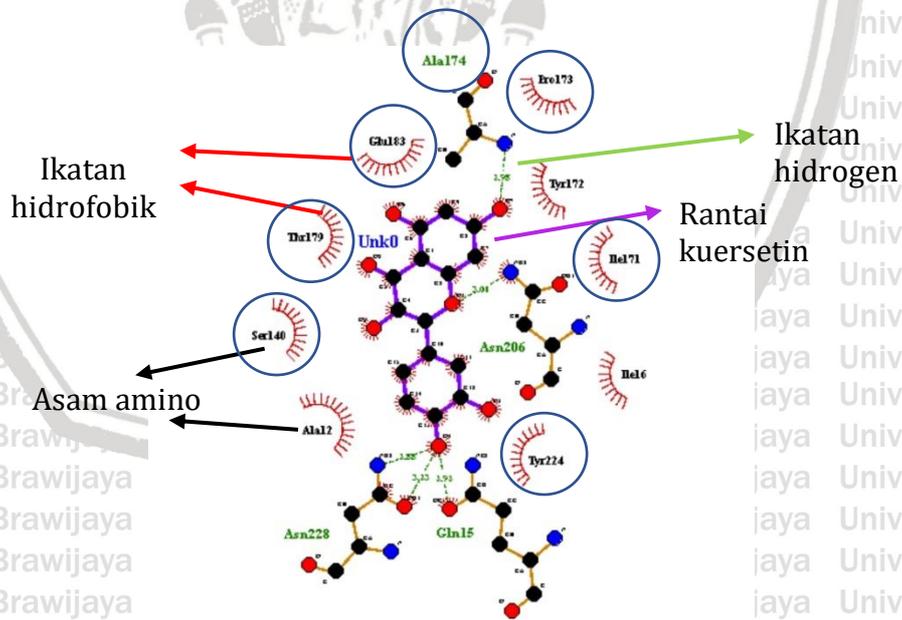
LIGAN	Interaksi
Paclitaxel	Ikatan hidrogen: Gln281 Ikatan hidrofobik: Ala233, Arg278, Asp226, His229, Leu217, Leu219, Leu230, Leu275, Leu 371, Phe272, Pro360, Ser277, dan Thr276.
GTP	Ikatan hidrogen: Arg278, Leu217, Ser277, Ikatan hidrofobik: Asp226, His229, Leu219, Leu230, Leu275, Leu371, Phe272, dan Thr276.

Keterangan: Ikatan yang terbentuk dari kompleks antarmolekul TUBB1 dengan paclitaxel yaitu 14 asam amino yang membentuk 1 ikatan hidrogen dan 13 ikatan hidrofobik. Sedangkan ikatan yang terbentuk dari kompleks antarmolekul TUBB1 dengan GTP yaitu 11 asam amino yang membentuk 3 ikatan hidrogen dan 8 ikatan hidrofobik.



Pada kompleks ikatan antara TUBB1 dengan obat paclitaxel didapatkan 14 asam amino yang membentuk 1 ikatan hidrogen yaitu Gln281, serta membentuk 13 ikatan hidrofobik yaitu Ala233, Arg278, Asp226, His229, Leu217, Leu219, Leu230, Leu275, Leu 371, Phe272, Pro360, Ser277, dan Thr276. Sedangkan pada kompleks ikatan antara TUBB1 dengan GTP didapatkan 11 asam amino yang membentuk 3 ikatan hidrogen yaitu Arg278, Leu217, Ser277, serta membentuk 8 ikatan hidrofobik yaitu Asp226, His229, Leu219, Leu230, Leu275, Leu371, Phe272, dan Thr276. Didapatkan adanya 11 ikatan asam amino yang sama pada kompleks ikatan antarmolekul TUBB1 dengan paclitaxel dan TUBB1 dengan GTP, yaitu Arg278, Asp226, His229, Leu217, Leu219, Leu230, Leu275, Leu371, Phe272, Ser277, dan Thr276.

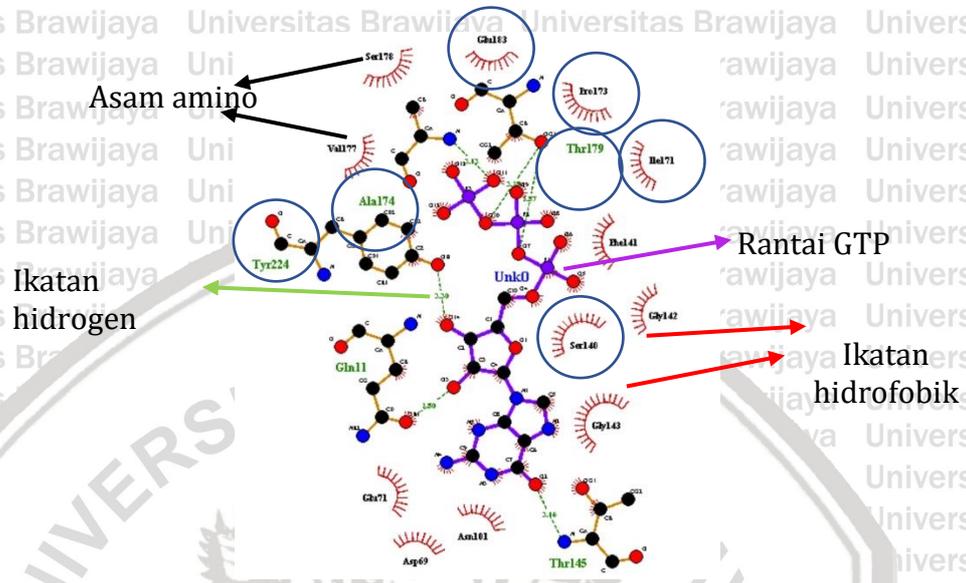
### 5.2.2 Hasil Visualisasi *Molecular Docking* TUBB3 dengan Ligan



**Gambar 5.7 Visualisasi Ikatan Hidrogen, Hidrofobik, dan Asam Amino Antara TUBB3 dan kuersetin**

Keterangan: Rantai berwarna ungu ditengah adalah rantai kuersetin. Sedangkan yang disekitarnya merupakan bagian dari reseptor TUBB3. Ikatan yang ditunjukkan dengan garis putus-putus berwarna hijau merupakan ikatan hidrogen. Garis-garis merah setengah lingkaran menunjukkan adanya ikatan hidrofobik. Sedangkan lingkaran biru yang mengelilingi asam amino merupakan ikatan dengan asam

amino yang sama pada kompleks TUBB3 dengan GTP. Kompleks ikatan antara TUBB3 dengan kuersetin memiliki 13 ikatan asam amino yaitu Ala12, Ala174, Asn206, Asn228, Gbu183, Gln15, Ile16, Ile171, Pro173, Ser140, Thr179, Tyr172 dan Tyr224.



**Gambar 5.8 Visualisasi Ikatan Hidrogen, Hidrofobik, dan Asam Amino antara TUBB3 dan GTP.**

Keterangan: Rantai berwarna ungu ditengah adalah rantai GTP. Sedangkan yang disekitarnya merupakan bagian dari reseptor TUBB3. Ikatan yang ditunjukkan dengan garis putus-putus berwarna hijau merupakan ikatan hidrogen. Garis-garis merah setengah lingkaran menunjukkan adanya ikatan hidrofobik. Sedangkan lingkaran biru yang mengelilingi asam amino merupakan ikatan dengan asam amino yang sama pada kompleks TUBB3 dengan kuersetin. Kompleks ikatan antara TUBB3 dengan GTP memiliki 17 ikatan asam amino yaitu Ala174, Asn101, Asp69, Gbu71, Gbu183, Gln11, Gly142, Gly143, Ile171, Phe141, Pro173, Ser140, Ser178, Thr179, Thr145, Tyr224 dan Vall77

**Tabel 5.4 Ikatan Hidrogen dan Hidrofobik Antara TUBB3 dengan Ligan dan Asam Amino**

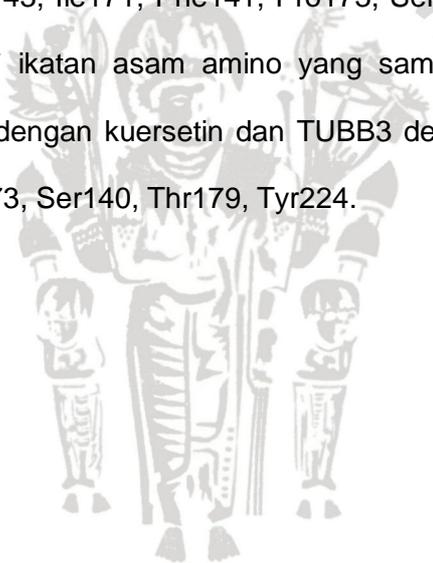
LIGAN	Interaksi
Kuersetin	Ikatan hidrogen: <b>Ala174</b> , Asn206, Asn228, dan Gln15, Ikatan hidrofobik: Ala12, <b>Gbu183</b> , Ile16, <b>Ile171</b> , <b>Pro173</b> , <b>Ser140</b> , <b>Thr179</b> , Tyr172 dan <b>Tyr224</b> .
GTP	Ikatan hidrogen: <b>Ala174</b> , Gln11, <b>Tyr224</b> , <b>Thr179</b> dan Thr145 Ikatan hidrofobik: Asn101, Asp69, Gbu71, <b>Gbu183</b> , Gly142, Gly143, <b>Ile171</b> , Phe141, <b>Pro173</b> , <b>Ser140</b> , Ser178, dan Vall77

Keterangan: Ikatan yang terbentuk dari kompleks antarmolekul TUBB3-kuersetin yaitu 13 ikatan asam amino yang membentuk 4 ikatan hidrogen dan 9 ikatan hidrofobik. Sedangkan ikatan yang



terbentuk dari kompleks antarmolekul TUBB3-GTP yaitu 17 ikatan asam amino yang membentuk 5 ikatan hidrogen dan 12 ikatan hidrofobik.

Pada kompleks ikatan antara TUBB3 dengan obat kuerserin didapatkan 13 ikatan asam amino yang membentuk 4 ikatan hidrogen yaitu Ala174, Asn206, Asn228, dan Gln15, serta membentuk 9 ikatan hidrofobik yaitu Ala12, Gbu183, Ile16, Ile171, Pro173, Ser140, Thr179, Tyr172 dan Tyr224. Sedangkan pada kompleks ikatan antara TUBB3 dengan GTP didapatkan 17 ikatan asam amino yang membentuk 5 ikatan hidrogen yaitu Ala174, Gln11, Tyr224, Thr179 dan Thr145, serta membentuk 12 ikatan hidrofobik yaitu Asn101, Asp69, Gbu71, Gbu183, Gly142, Gly143, Ile171, Phe141, Pro173, Ser140, Ser178, dan Vall77. Didapatkan adanya 7 ikatan asam amino yang sama pada kompleks ikatan antarmolekul TUBB3 dengan kuersetin dan TUBB3 dengan GTP, yaitu Ala174, Gbu185, Ile171, Pro173, Ser140, Thr179, Tyr224.



## BAB 6

### PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk melihat apakah terdapat ikatan spesifik serta *binding affinity* terhadap kompleks ikatan kuersetin dengan reseptor target  $\beta$ -TUBULIN III (TUBB3) yang merupakan ko-kemoterapi paclitaxel yang memiliki reseptor di  $\beta$ -TUBULIN I (TUBB1). Metode yang dipakai pada penelitian ini adalah *specific molecular docking* yaitu dengan cara mengikatkan sebuah ligan ketempat sisi aktif dari reseptor target yang sebelumnya sudah berikatan dengan ligan kontrol. Dalam hal ini kuersetin merupakan sebuah ligan dan reseptor target nya adalah TUBB3 dan yang berperan sebagai ligan control adalah GTP. Ketika kedua ligan memiliki kesamaan *binding site* pada sisi aktif target maka ligan yang diuji akan bersifat kompetitif terhadap kontrol. Sementara jika kedua ligan tidak memiliki kesamaan *binding site* pada sisi aktif target maka ligan yang diuji bersifat tidak kompetitif terhadap kontrol. Diharapkan ligan kuersetin tersebut dapat menempel pada sisi aktif yang sama dengan sisi aktif yang telah ditempati ligan control GTP agar dapat bekerja dengan mekanisme kompetitif dan juga menghasilkan efek terhadap kanker payudara.

#### 6.1 Ikatan Paclitaxel dengan TUBB1

Paclitaxel merupakan salah satu obat kemoterapi yang sering dipakai untuk pengobatan kanker payudara. Paclitaxel sudah terbukti efektif menghambat sel kanker payudara dengan mekanisme kerjanya. Paclitaxel mengikat pada tubulin yang merupakan komponen protein mikrotubulus, sekaligus menginduksikan pembongkaran mikrotubulus dengan cara membentuk tubulin

yang stabil dan tidak berfungsi. Stabilisasi mikrotubulus menghambat sel dalam fase M dari siklus sel, meng-inhibisi pembelahan sel dan menyebabkan kematian sel. (BCCA, 2018).

Hasil *docking* paclitaxel dengan TUBB1 memiliki nilai *binding affinity* sebesar  $-11,8$  kkal/mol, sedangkan hasil *docking* ligan kontrol GTP dengan TUBB1 memiliki nilai *binding affinity* sebesar  $-6,1$  kkal/mol. Suatu ikatan dapat dikatakan kuat bila nilai *binding affinity*  $<-7,3$  kkal/mol (Sergey dan Carola, 2014).

Sehingga baik paclitaxel maupun GTP sama-sama memiliki ikatan kuat dengan TUBB1. Ikatan antara target dan ligan yang terjadi cenderung mendahulukan interaksi yang memiliki *binding affinity* lebih kuat karena dapat menciptakan ikatan yang lebih stabil dan kuat. Paclitaxel memiliki nilai *binding affinity* lebih kuat dibanding dengan GTP sehingga paclitaxel lebih berpotensi untuk berikatan dengan sisi aktif TUBB1 yang bertindak sebagai kompetitif inhibitor sehingga potensinya dapat dikatakan cukup baik dalam menghambat kerja TUBB1.

## 6.2 Interaksi Ikatan Paclitaxel dengan TUBB1

Nilai *binding affinity* ditentukan dengan banyaknya ikatan yang terbentuk antara ligan dan makromolekulnya. Semakin banyak ikatan yang terbentuk maka semakin mengarah ke negatif pula nilai *binding affinity* yang menandakan semakin kuatnya ikatan antara ligan dan makromolekulnya. Pada kompleks ikatan antara TUBB1 dengan obat paclitaxel didapatkan 14 asam amino yang membentuk 1 ikatan hidrogen yaitu Gln281, serta membentuk 13 ikatan hidrofobik yaitu Ala233, Arg278, Asp226, His229, Leu217, Leu219, Leu230, Leu275, Leu 371, Phe272, Pro360, Ser277, dan Thr276. Sedangkan pada kompleks ikatan antara TUBB1 dengan GTP didapatkan 11 asam amino yang membentuk 3 ikatan hidrogen yaitu

Arg278, Leu217, Ser277, serta membentuk 8 ikatan hidrofobik yaitu Asp226, His229, Leu219, Leu230, Leu275, Leu371, Phe272, dan Thr276.

Ikatan asam amino yang dimiliki oleh kompleks ikatan TUBB1 dengan paclitaxel lebih banyak dari jumlah ikatan asam amino yang dimiliki oleh kompleks ikatan TUBB1 dengan GTP. Nilai binding affinity kompleks ikatan antara TUBB1 dengan paclitaxel yang lebih besar dapat juga dipengaruhi oleh faktor lain yaitu gaya rotasi, jarak antar ikatan, dan jumlah ikatan hidrogen maupun hidrofobik.

Ikatan hidrogen mencerminkan ikatan yang kurang stabil dibandingkan dengan ikatan hidrofobik. Hal tersebut dikarenakan atom hidrogen tidak memiliki elektron inti yang dapat melindungi (shielding) inti atom dan ukurannya cukup kecil sehingga dapat lebih didekati oleh molekul-molekul lain. Akibatnya, kutub-kutub antara hidrogen dan pasangan elektron bebas pada atom elektronegatif menjadi lebih mudah untuk berinteraksi.

Terdapat 11 ikatan asam amino yang sama pada kompleks ikatan antarmolekul TUBB1 dengan paclitaxel dan TUBB1 dengan GTP, yaitu Arg278, Asp226, His229, Leu217, Leu219, Leu230, Leu275, Leu371, Phe272, Ser277, dan Thr276 sehingga paclitaxel berpotensi menghambat TUBB1 pada sisi aktif ligan kontrol GTP.

### 6.3 Ikatan Kuersetin dengan TUBB3

Kuersetin yang sebelumnya sudah diketahui sebagai salah satu senyawa yang berada dalam ekstrak daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) memiliki efek yang sangat baik sebagai obat dari berbagai macam penyakit, salah satunya yaitu kanker payudara. (Chakerzehi *et al.*, 2015) Kuersetin menghambat proliferasi sel kanker dengan merusak struktur mikrotubulus seluler dan

mengganggu fungsinya. Pengikatan kuersetin ke tubulin menginduksi perubahan konformasi dalam tubulin dan mekanisme di mana kuersetin dapat mengganggu dinamika polimerisasi mikrotubulus. (Panda, *et al.*, 2000).

Dari penelitian yang telah dijalankan, didapatkan bahwa kuersetin dapat menempel pada TUBB3 di sisi aktif yang sama dengan ligan kontrol GTP dengan nilai *binding affinity* -9.4 kkal/mol sedangkan nilai *binding affinity* dari kompleks ikatan ligan kontrol GTP dengan TUBB3 sebesar -8.9 kkal/mol. Sebuah ikatan dinyatakan kuat apabila nilai dari *binding affinity* kompleks ikatan tersebut adalah  $< -7,3$  kkal/mol (Sergey dan Carola, 2014). Ikatan antara target dan ligan yang terjadi cenderung mendahulukan interaksi yang memiliki *binding affinity* lebih kuat karena dapat menciptakan ikatan yang lebih stabil dan kuat. Dengan begitu dapat disimpulkan bahwa nilai *binding affinity* kompleks ikatan baik antara TUBB3 dengan kuersetin maupun TUBB3 dengan GTP sebagai ligan kontrol sama-sama dibawah -7,3 kkal/mol sehingga kuersetin dapat sangat kuat berikatan dengan sisi aktif TUBB3. Dengan begitu kuersetin sangat baik berikatan dengan TUBB3 dan dapat menimbulkan efek antikanker karena nilai *binding affinity* -9.4 kkal/mol.

#### 6.4 Interaksi Ikatan Kuersetin dengan TUBB3

Pada hasil *docking* yang telah divisualisasikan didapatkan bahwa kompleks ikatan antara TUBB3 dengan kuersetin memiliki 13 ikatan asam amino yang membentuk 4 ikatan hidrogen yaitu Ala174, Asn206, Asn228, dan Gln15, serta membentuk 9 ikatan hidrofobik yaitu Ala12, Gbu183, Ile16, Ile171, Pro173, Ser140, Thr179, Tyr172 dan Tyr224. Sedangkan pada kompleks ikatan antara TUBB3 dengan GTP didapatkan 17 ikatan asam amino yang membentuk 5 ikatan hidrogen yaitu Ala174, Gln11, Tyr224, Thr179 dan Thr145, serta membentuk 12

ikatan hidrofobik yaitu Asn101, Asp69, Gbu71, Gbu183, Gly142, Gly143, Ile171, Phe141, Pro173, Ser140, Ser178, dan Vall77.

Ikatan asam amino yang dimiliki oleh kompleks ikatan TUBB3 dengan GTP lebih banyak dari jumlah ikatan asam amino yang dimiliki oleh kompleks ikatan kuersetin dengan TUBB3. Nilai binding affinity kompleks ikatan antara TUBB3 dengan kuersetin yang lebih besar dapat juga dipengaruhi oleh faktor lain yaitu gaya rotasi, jarak antar ikatan, dan jumlah ikatan hidrogen maupun hidrofobik.

Ikatan hidrogen mencerminkan ikatan yang kurang stabil dibandingkan dengan ikatan hidrofobik. Hal tersebut dikarenakan atom hidrogen tidak memiliki elektron inti yang dapat melindungi (shielding) inti atom dan ukurannya cukup kecil sehingga dapat lebih didekati oleh molekul-molekul lain. Akibatnya, kutub-kutub antara hidrogen dan pasangan elektron bebas pada atom elektronegatif menjadi lebih mudah untuk

Terdapat 7 ikatan asam amino yang sama pada kompleks ikatan antarmolekul TUBB3 dengan kuersetin dan TUBB3 dengan GTP, yaitu Ala174, Gbu185, Ile171, Pro173, Ser140, Thr179, Tyr224 sehingga kuersetin berpotensi menghambat TUBB3 pada sisi aktif ligan kontrol GTP.

Mekanisme kerja antara kuersetin dan paclitaxel yang sama dalam menghambat dua jenis tubulin yang berbeda dapat memberikan efek pada kanker payudara. Oleh karena mekanisme kerja yang hampir sama inilah yang diharapkan kuersetin dapat dijadikan sebagai agen ko-kemoterapi paclitaxel untuk pengobatan kanker payudara.

## 6.5 Keterbatasan Penelitian

Keterbatasan pada penelitian ini adalah tidak dilakukannya simulasi pengondisian struktur kompleks TUBB3 dengan kuersetin ke dalam suatu lingkungan yang dikondisikan menyerupai lingkungan tubuh manusia untuk mengetahui apakah ikatan antara TUBB3 dengan kuersetin akan tetap stabil atau tidak. Hal ini dikarenakan keterbatasan waktu dan fasilitas yang dimiliki.



UNIVERSITAS BRAWIJAYA

## BAB 7

### PENUTUP

#### 7.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa kuersetin berpotensi sebagai agen ko-kemoterapi paclitaxel dikarenakan kuersetin memiliki mekanisme kerja yang sama dengan paclitaxel tetapi bekerja pada target yang berbeda dalam menghambat kanker payudara. Hal ini dapat dilihat melalui:

1. Terdapat ikatan antara kuersetin dalam benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) dengan TUBB3 yang berpotensi sebagai agen kokemoterapi paclitaxel pada sel kanker payudara secara *in silico*.
2. Afinitas ikatan kuersetin terhadap TUBB3 pada sel kanker payudara secara *in silico* sebesar -9.4 kkal/mol.

#### 7.2 Saran

Adapun saran yang dapat peneliti berikan dari penelitian ini yaitu;

1. Dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui dinamika molekul dari kompleks TUBB3 dengan kuersetin dengan mengondisikannya sesuai dengan kondisi yang mirip lingkungan tubuh manusia menggunakan aplikasi YASARA.
2. Dilakukan penelitian *in vitro* maupun *in vivo* untuk mengetahui potensi kuersetin dalam menghambat TUBB3.

## DAFTAR PUSTAKA

Anonymous. 2017. Stanford Cancer Institute, Breast Cancer,(Online), (<http://med.stanford.edu/cancer.html>, diakses 08 Desember 2018)

Anonymous, 2017. American Cancer Society, Breast Cancer, (Online), (<https://www.cancer.org/cancer/breast-cancer.html>, diakses 13 Desember 2018)

Anonymous, 2017. American Cancer Society, Breast Cancer Risk and Prevention, (Online), (<https://www.cancer.org/cancer/breast-cancer/risk-and-prevention.html>, diakses 22 Agustus 2018)

Aoki D, Oda Y, Hattori S, Taguchi K, Ohishi Y, Basaki Y, Oie S, Suzuki N, Kono S, Tsuneyoshi M, Ono M, Yanagawa T, Kuwano M., 2009, Overexpression of class III beta-tubulin predicts good response to taxane-based chemotherapy in ovarian clear cell adenocarcinoma. Clin Cancer Res.

Backer, A and Van Den Brink, B., 1965, Flora of Java (Spermatophytes Only), Volume I, N.V.P. The Netherlands, Noordhoff-Groningen.

Batori M, Ruggieri M, Chatelou E, Straniero A, Mariotta G, Palombi L, Casella G, Basile M, Casella MC. 2006. Breast cancer in young women: case.

BCCA, 2018

Bouker KB, Skaar TC, Riggins RB, Harburger DS, Fernandez DR, Zwart A, Wang A, Clarke R. 2005. Interferon regulatory factor-1 (IRF-1) exhibits tumor suppressor activities in breast cancer associated with caspase activation and induction of apoptosis. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15878912>

Bruton, L., Lazo, J. S., and Parker, K. L., 2005, Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 11th Edition, McGrawHill, Lange. report and a review. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/m/pubmed/16705948/>

Chaudhry V, Rowinsky EK, Sartorius SE, Donehower RC, Cornblath DR., 2011, Peripheral neuropathy from taxol and cisplatin combination chemotherapy: clinical and electrophysiological studies. Ann Neurol 1994;35:304-11.

- Chakerzehi, A., Eivazi-arvanagh, N., Saedi, S., Hematti, M., Mohiti-ardakani, J., Moradi, A., Shokouhi, A., dan Sadughi, S., 2015. Effect of Quercetin on RAC1 Gene Expression as a Marker of Metastasis in Cervical Cancer Cells. *Zahedan J Res Med Sci*, 17(5), pp. 29–33.
- Chotimah, B.K., 2014. *Bimbingan Keagamaan Islami dalam Mengatasi Distres Spiritual Pasien Kanker di RSU & Holistik Sejahtera Bhakti Salatiga*. Universitas Islam Negeri Walisongo.
- Das, M.C., Sandhu, P., Gupta, P., Rudrapaul, P., De, U.C., Tribedi, P., Akhter, Y., dan Bhattacharjee, S., 2016. Attenuation of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation by Vitexin: A combinatorial study with azithromycin and gentamicin. *Scientific Reports*, [online], pp.1–13. Terdapat pada: <<http://dx.doi.org/10.1038/srep23347>>.
- Da'i Muhammad dan D.K. Ika Trisharyanti. 2014. Mekanisme Molekuler Sitotoksitas Ekstrak Daun Jati Belanda Terhadap Sel Kanker. Laporan Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta, Solo.
- David, A.V.A., Arulmoli, R., dan Parasuraman, S., 2016. Overviews of Biological Importance of Quercetin: A Bioactive Flavonoid. *Pharmacognosy reviews*, 10(20), pp. 84-89.
- Fajriah, S., Darmawan, A., Sundowo A dan Artanti, N. 2007. Isolasi Senyawa Antioksidan dari Ekstrak Etil Asetat Daun Benalu *Dendrophthoe pentandra* L.Miq yang Tumbuh pada Inang Lobi-Lobi. *Jurnal Kimia Indonesia* 2 (1): 17-20.
- Fauziana, A., 2011. Hubungan dukungan keluarga dengan motivasi menjalani kemoterapi pada pasien post opca mammae di RS Kanker Dharmis Jakarta Barat. Di akses pada tanggal 19 Desember 2018 dari <http://www.library.upnvj.ac.id/pdf>
- Funkhouser, Thomas. 2007. Lecture Protein-Ligand Docking Methods. <https://www.cs.princeton.edu/courses/archive/fall07/cos597A/lectures/docking.pdf>
- Gao J, Lu M, Yu JW, Li YY, Shen L., 2011, Thymidine Phosphorylase/beta-tubulin III expressions predict the response in Chinese advanced gastric cancer patients receiving first-line capecitabine plus paclitaxel, *BMC Cancer*. 2011 May 18;11:177. doi: 10.1186/1471-2407-11-177
- Gewirtz, D.A., 1999, A critical evaluation of the mechanisms of action proposed for the antitumor effects of the anthracycline antibiotics adriamycin and daunorubicin, *Biochem. Pharmacol.*, 57:727-741.

Ghoncheh M, Pournamdar Z, Salehiniya H. 2016. Incidence and Mortality and Epidemiology of Breast Cancer in the World. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27165206>

Goodman & Gilman, 2012, Dasar Farmakologi Terapi, Edisi 10, Editor Joel G. Hardman & Lee E. Limbird, Konsultan Editor Alfred Goodman Gilman, Diterjemahkan oleh Tim Alih Bahasa Sekolah Farmasi ITB, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.

Hermawan, A., 2018. *Paclitaxel / CCRC*. [online] Ccrc.farmasi.ugm.ac.id. Available at: [http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/?page\\_id=2246](http://ccrc.farmasi.ugm.ac.id/?page_id=2246) [Accessed 19 Dec. 2018].

Ikawati, Z., Jumiani, S. dan Putu, I. D. P. S. (2008). Kajian Keamanan Pemakaian Obat Antikanker di Poliklinik Usia Lanjut RS DR. Sardjito. Yogyakarta. Jurnal Farmasi Indonesia Vol. 4 No. 1: 30 – 41

Kakizoe, T. 2003. Chemoprevention of cancer- focusing on clinical Trials. Japanese Journal of Clinical Oncology. Vol.33 (9) 421-442.

Karki, R. and Ferlini, C. (2018). [online] Atlasgeneticsoncology.org. Available at: <http://atlasgeneticsoncology.org/Deep/ClassIIIbetatubulinID20135.html> [Accessed 8 Dec. 2018].

Katsetos CD, Herman MM, Mork SJ., 2003, Class III beta-tubulin in human development and cancer. Cell Motil Cytoskeleton. 2003 Jun;55(2):77-96.

Kemenkes, 2018.

Lakhanpal, P., dan Rai, D. K., 2007. Quercetin: A Versatile Flavonoid. *Internet Journal of Medical Update*, 2(2), pp. 20-35.

McGuire WP, Rowinsky EK, Rosenshein NB, *et al*. Taxol: a unique antineoplastic agent with significant activity in advanced ovarian epithelial neoplasms. *Ann Intern Med* 2014;111:273-9.

Pakpahan, M. T., Rusmerryani, M., Kawaguchi, K., Saito, H., dan Nagao, H., 2013. Evaluation of Scoring Functions for Protein-Ligand Docking. *AIP Conference Proceedings*, 1518(1), pp.645–648.

Panda, D., Ananthnarayan, V., Larson, G., Shih, C., Jordan, M. A., and Wilson, L. (2000) Interaction of the antitumor compound cryptophycin-52 with tubulin, *Biochemistry* 39, 14121-14127.

Plewczynski, D., Philips, A., Grothuss, M. Von, Rychlewski, L., dan Ginalski, K., 2014. HarmonyDOCK: The Structural Analysis of Poses in Protein-Ligand Docking. *Journal of computational biology: a journal of computational molecular cell biology*, [online] 21(3), pp.247–56. Tersedia pada: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21091053>>.

Putri, Y.I., 2017. *Ekstraksi Kuersetin dari Kulit Terong Belanda (Solanum betaceum Cav.) Menggunakan Pelarut Etanol*. Universitas Sumatera Utara. Pubchem, 2004.

Raad, A., Kalakech, A & Avache, M. 2012. Breast cancer classification using neural network approach : MLP and RBF. The 13th International Arab Conference on Information Technology ACIT'2012, 15-19.

Rowinsky EK, Kaufman SH, Baker SD, Grochow LB, Chen TL, Peereboom D, Bowling MK, Sartorius SE, Ettinger DS, Forastiere AA and Donehower RC (1997) Sequences of topotecan and cisplatin phase I pharmacologic and in vitro studies to examine sequence dependence. *J Clin Oncol* 15: 3074–3084

Salahudeen, M.S., dan Nishtala, P.S., 2017. An Overview of Pharmacodynamic Modelling, Ligand-Binding Approach and Its Application in Clinical Practice. *Saudi Pharmaceutical Journal*, [online] 25(2), pp. 165–175. Terdapat pada: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jsps.2016.07.002>>.

Sandina, D. 2011. Sembilan penyakit mematikan mengenali tanda dan pengobatannya. Yogyakarta: Smart Pustaka.

Saussede-Aim J, Matera EL, Ferlini C, Dumontet C., 2009, Beta3-tubulin is induced by estradiol in human breast carcinoma cells through an estrogen-receptor dependent pathway, PMID [19466750](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19466750/), Jul;66(7):378-88. doi: 10.1002/cm.20377.

Setiawan, S., 2018. *THE EFFECT OF CHEMOTHERAPY IN CANCER PATIENT TO ANXIETY*. [online] [Juke.kedokteran.unila.ac.id](http://joke.kedokteran.unila.ac.id). Available at: <http://joke.kedokteran.unila.ac.id/index.php/majority/article/view/587> [Accessed 3 Dec. 2018].

Sunaryati, S.S., 2011. *14 Penyakit Paling Sering Menyerang dan Sangat Mematikan*. Yogyakarta: FlashBooks.

Tjay, Tan Hoan dan Kirana Rahardja, 2007, Obat-Obat Penting Khasiat, Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya, Edisi Keenam, 262, 269-271, PT. Elex Media Komputindo, Jakarta

Tri Endharti A., Wulandari A., Listyana A., Norahmawati E., Permana S. 2016. Dendrophthoe pentandra (L.) Miq extract effectively inhibits inflammation, proliferation and induces p53 expression on colitis- associated colon cancer. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5037598/>

WHO, 2013

Widschwendter M, Rosenthal AN, Philpott S, Rizzuto I, Fraser L, Hayward J, Intermaggio MP, Edlund CK, Ramus SJ, Gayther SA, Dubeau L, Fourkala EO, Zaikin A, Menon U, Jacobs IJ., 2013, The sex hormone system in carriers of BRCA1/2 mutations: a case-control study, *Lancet Oncol.*, Nov;14(12):1226-32. doi: 10.1016/S1470-2045(13)70448-0

Zhou X., Zhu H., Liu L., Lin J. and Tang K. 2010. A review: recent advances and future prospects of Taxol-producing endofitok fungi. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 86: 1707–1717.