

**UJI *IN SILICO* IKATAN KUERSETIN EKSTRAK ETANOL DAUN
BENALU MANGGA (*Dendrophthoe pentandra*) DENGAN *FOCAL*
ADHESION KINASE (FAK) SEBAGAI TERAPI KOMBINASI 5-FU PADA
KANKER SERVIKS**

TUGAS AKHIR

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



Oleh:
Tasha Amarilis
155070101111099

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

DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Judul.....	i
Halaman Persetujuan	ii
Pernyataan Keaslian Tulisan	iii
Kata Pengantar.....	iv
Abstrak	vii
Abstract	viii
Daftar Isi	ix
Daftar Tabel.....	xiii
Daftar Gambar.....	xiv
Daftar Singkatan.....	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.2.1 Sub Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2 Tujuan Khusus.....	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Manfaat Akademis	5
1.4.2 Manfaat Praktis	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Kanker.....	6



2.2	Kanker Serviks	6
2.2.1	Pengertian Kanker Serviks.....	6
2.2.2	Epidemiologi	7
2.2.3	Anatomi Serviks	8
2.2.4	Gambaran Histopatologis Kanker Serviks	9
2.2.5	Mekanisme Kanker Serviks.....	10
2.2.6	Klasifikasi Kanker Serviks	13
2.2.7	Faktor Risiko Kanker Serviks	13
2.2.8	Diagnosis Kanker Serviks	17
2.2.8.1	Tanda dan Gejala Kanker Serviks	17
2.2.8.2	Penegakan Diagnosis Kanker Serviks	17
2.2.9	Skrining Kanker Serviks	17
2.2.10	Tatalaksana Kanker Serviks.....	18
2.2.10.1	Tatalaksana Lesi Prakanker	18
2.2.10.2	Tatalaksana Kanker Serviks Invasif	19
2.2.11	Prognosis Kanker Serviks	20
2.3	<i>5-Fluorouracil</i> (5-FU)	21
2.3.1	Mekanisme Kerja <i>5-Fluorouracil</i>	21
2.4	Terapi Kombinasi.....	24
2.5	Benalu Mangga	24
2.5.1	Klasifikasi <i>Dendrophthoe pentandra</i>	25
2.5.2	Kandungan <i>Dendrophthoe pentandra</i>	25
2.6	Kuersetin	26
2.6.1	Sifat-Sifat Kuersetin	26
2.6.2	Manfaat Kuersetin.....	26
2.7	<i>Focal Adhesion Kinase</i> (FAK).....	27
2.7.1	Mekanisme FAK pada Kanker Serviks	28

2.8	<i>Molecular Docking</i>	30
-----	--------------------------------	----

BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1	Kerangka Konsep Penelitian	33
3.2	Deskripsi Kerangka Konsep	34
3.3	Hipotesis Penelitian	35

BAB 4. METODE PENELITIAN

4.1	Rancangan Penelitian	36
4.2	Populasi dan Sampel.....	36
4.2.1	Populasi.....	36
4.2.2	Sampel	36
4.3	Lokasi dan Waktu Penelitian	36
4.4	Identifikasi Variabel	36
4.5	Bahan dan Alat / Instrumen Penelitian.....	37
4.5.1	Alat Penelitian.....	37
4.5.2	Bahan Penelitian.....	37
4.6	Defini Operasional	38
4.7	Prosedur Penelitian	39
4.7.1	Pencarian dan Preparasi Data Kuersetin	39
4.7.2	Pencarian dan Preparasi Data FAK	39
4.7.3	Pencarian dan Preparasi Data FdUMP	41
4.7.4	Pencarian dan Preparasi Data <i>Thymidylate Synthase</i>	41
4.7.5	Proses <i>Docking</i> Kuersetin dengan FAK	43
4.7.6	Proses <i>Docking</i> Protein FdUMP dengan <i>Thymidylate Synthase</i>	44



4.8	Alur Penelitian.....	46
4.9	Analisis Data.....	47

BAB 5. HASIL PENELITIAN

5.1	Hasil <i>Binding Affinity Molecular Docking</i>	48
5.1.1	Hasil <i>Binding Affinity</i> FdUMP dengan <i>Thymidylate Synthase</i>	48
5.1.2	Hasil <i>Binding Affinity</i> Kuersetin dengan FAK.....	50
5.2	Hasil Visualisasi <i>Molecular Docking</i>	51

BAB 6. PEMBAHASAN

6.1	Ikatan 5-FU dengan <i>Thymidylate Synthase</i>	54
6.2	Ikatan Kuersetin dengan FAK	55
6.3	Interaksi Ikatan Kuersetin dengan FAK	56
6.4	Keterbatasan Penelitian	57

BAB 7. PENUTUP

7.1	Kesimpulan	58
7.2	Saran.....	58

DAFTAR PUSTAKA	59
-----------------------------	----

LAMPIRAN 1	65
-------------------------	----

LAMPIRAN 2	66
------------------	----

LAMPIRAN 3	67
------------------	----

LAMPIRAN 4	68
------------------	----

LAMPIRAN 5	69
------------------	----



DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1	Klasifikasi Kanker Serviks Berdasarkan <i>Staging</i> FIGO 2009 ..13
Tabel 5.1	Nilai <i>Binding Affinity</i> <i>Thymidylate Synthase</i> dengan Ligan... ..49
Tabel 5.2	Nilai <i>Binding Affinity</i> FAK dengan Ligan..... ..51
Tabel 5.3	Ikatan Hidrogen dan Hidrofobik Antara FAK dengan Ligan dan Asam Amino..... ..53



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Anatomi Serviks	9
Gambar 2.2 Histologi Kanker Serviks	10
Gambar 2.3 Patologi Kanker Serviks Karsinoma Skuamosa	10
Gambar 2.4 Senyawa 5-Fluorouracil	21
Gambar 2.5 Mekanisme Kerja 5-FU	23
Gambar 2.6 Dendrophthoe pentandra	25
Gambar 2.7 Senyawa Kuersetin	26
Gambar 2.8 Protein <i>Focal Adhesion Kinase</i> (FAK)	28
Gambar 2.9 <i>FAK/PI3K/Akt/mTor Signalling Pathway</i>	29
Gambar 2.10 <i>FAK and VE-Cadherin Pathway</i>	30
Gambar 4.1 Struktur 3 Dimensi Kuersetin	39
Gambar 4.2 Struktur 3 Dimensi FAK, Molekul Air, dan Ligan YAM	40
Gambar 4.3 Struktur 3 Dimensi FAK Tanpa Molekul Air dan Ligan Kontrol	40
Gambar 4.4 Struktur 3 Dimensi Ligan Kontrol YAM	40
Gambar 4.5 Struktur 3 Dimensi FdUMP	41
Gambar 4.6 Struktur 3 Dimensi <i>Thymidylate Synthase</i> dan Ligan UMP	42
Gambar 4.7 Struktur 3 Dimensi <i>Thymidylate Synthase</i> Tanpa Ligan UMP	42
Gambar 5.1 Struktur Antarmolekul Kompleks <i>Thymidylate Synthase</i> dengan UMP dan FdUMP	49



Gambar 5.2	Struktur Antarmolekul Kompleks FAK dengan YAM dan Kuersetin	51
Gambar 5.3	Visualisasi Ikatan Hidrogen, Hidrofobik, dan Asam Amino Antara FAK dan YAM.....	52
Gambar 5.4	Visualisasi Ikatan Hidrogen, Hidrofobik, dan Asam Amino Antara FAK dan Kuersetin	52



DAFTAR SINGKATAN

5-FU : *5-fluorouracil*

Akt : *Protein kinase B*

DNA : *Deoxyribonucleic acid*

DPD : *Dihydropyrimidine dehydrogenase*

DTMP : *Deoxythymidine-5'-monophosphate*

DTTP : *Deoxythymidine-5'-triphosphate*

DUMP/UMP : *Deoxyuridine monophosphate*

E2F : *The E2 factor*

EGF : *Epithelial growth factor*

FdUMP : *Fluorodeoxyuridine monophosphate*

FIGO : *International federation of gynecology and obstetrics*

FUTP : *Fluoridin-5'- trifosfat*

HPV : *Human papilloma virus*

MAPK/ERK : *Mitogen-activated protein kinases/ extracellular signal-regulated kinases*

mTor : *Mammalian Target of Rapamycin*

NCBI : *National centre of technology information*

PDB : *Protein Data Bank*

PI3K : *phosphoinositide-3-kinase*

PRb : *Protein retinoblastoma*

RNA : *Ribonucleic acid*

WHO : *World Health Organization*

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

UJI *IN SILICO* IKATAN KUERSETIN EKSTRAK ETANOL DAUN BENALU MANGGA (*Dendrophthoe pentandra*) DENGAN FOCAL ADHESION KINASE (FAK) SEBAGAI TERAPI KOMBINASI 5-FU PADA KANKER SERVIKS

Oleh:
TASHA AMARILIS
155070101111099

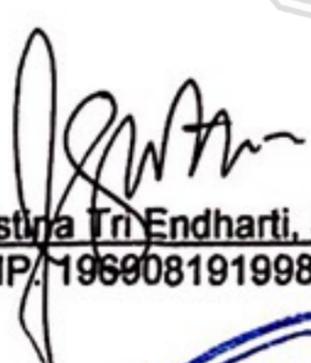
Telah diuji pada
Hari: Selasa
Tanggal: 27 November 2018
dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji-I,



dr. Aina Angelina, Sp.PA
NIP. 2012088509032001

Pembimbing-I/Penguji-II,



Agustina Tri Endharti, S.Si, Ph.D
NIP. 196908191998022001

Pembimbing-II/Penguji-III,



dr. Sony Agung Santoso, Sp.M(K)
NIP. 196603111996011001

Mengetahui,
Ketua Program Studi Pendidikan Dokter,



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

UJI *IN SILICO* IKATAN KUERSETIN EKSTRAK ETANOL DAUN BENALU MANGGA (*Dendrophthoe pentandra*) DENGAN *FOCAL ADHESION KINASE* (FAK) SEBAGAI TERAPI KOMBINASI 5-FU PADA SEL KANKER SERVIKS

Tasha Amarilis¹, Agustina Tri Endharti², dan Sony Agung Santoso³

1 Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

2 Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

3 Laboratorium Biokimia Biomolekuler Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

ABSTRAK

Kanker adalah pertumbuhan sel-sel secara abnormal dan melampaui batas. Menurut data WHO, salah satu kanker yang sering terjadi di Indonesia, khususnya pada wanita adalah kanker serviks dengan angka kejadian 40.000 kasus baru pertahunnya. Kanker serviks terjadi karena adanya infeksi *high-risk Human Papilloma Virus* (HPV) tipe 16 atau 18. Salah satu obat yang sering dipakai sebagai agen antikanker adalah *5-Fluorouracil* (5-FU). Karena efek samping dari kerja tunggal 5-FU cukup banyak sehingga membutuhkan bahan yang dapat bekerja sinergis dengan 5-FU sebagai agen ko-kemoterapi. Kuersetin adalah salah satu senyawa yang terdapat dalam ekstrak etanol daun benalu mangga yang berpotensi berperan sebagai agen antikanker dengan cara menghambat *focal adhesion kinase* (FAK). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membuktikan bahwa kuersetin berpotensi sebagai agen ko-kemoterapi 5-FU dalam menghambat kanker serviks. Penelitian ini menggunakan metode *in silico* atau *molecular docking*. Penelitian ini akan membuktikan adanya ikatan spesifik dan berapa besar nilai *binding affinity* antara FAK-kuersetin dibandingkan dengan obat/ligan kontrolnya. Sampel yang dipakai adalah struktur 3 dimensi kuersetin dan 5-FU (FdUMP) yang diambil dari *database PubChem*. Variabel yang diukur adalah adanya ikatan spesifik dan besar nilai *binding affinity* antara FAK-kuersetin. Hasil dari penelitian ini didapatkan adanya ikatan spesifik antara FAK-kuersetin dengan nilai *binding affinity* -8.9 kkal/mol yang berarti ikatan yang terbentuk antara FAK-kuersetin cukup kuat dengan nilai normal -7.3 kkal/mol. Kesimpulan dari penelitian ini adalah kuersetin berpotensi sebagai agen ko-kemoterapi 5-FU.

Kata kunci: kanker serviks, *5-Fluorouracil* (5-FU), benalu mangga, kuersetin, *molecular docking*.



ABSTRACT

Cancer is an abnormal growth of cells and exceed the limit. Based on WHO data, one of the most common cancers that occur in Indonesia, notably women is cervical cancer with the incidences 40.000 new cases in every year. Cervical cancer caused by the infection of high-risk Human Papilloma Virus (HPV), type 16 or 18. 5-FU is most common drug used in cervical cancer has quite a lot side effects, so it requires other substance that can work synergistically with 5-FU as co-chemotherapy agent. Quercetin is one of mango parasite leaf ethanol extract substance that has the potential act as an anticancer agent by inhibiting the role of focal adhesion kinase (FAK). The aim of this study is to prove that quercetin has a potential act as a co-chemotherapy along with 5-FU to inhibit cervical cancer. This study used molecular docking to prove the existence of a specific binding site and to assess the binding affinity score between FAK and quercetin compared to the control drug. The samples used were 3 dimensional structure of both quercetin and 5-FU (FdUMP). Variables measured are the existence of specific binding site and the binding affinity score between FAK and quercetin. The result of this study found the specific bond between FAK and quercetin with the binding affinity score -8.9 kcal/mol which means that the bond formed between FAK-quercetin is quite strong compared to the normal score -7.3 kcal/mol. As conclusion, quercetin has a potential effect as a co-chemotherapy agent along with 5-FU.

Keywords: cervical cancer, 5-Fluorouracil (5-FU), mango parasite, quercetin, molecular docking.

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker leher rahim atau yang lebih dikenal dengan sebutan kanker serviks adalah suatu keganasan dari leher rahim yang disebabkan oleh *high risk Human Papilloma Virus (HPV)*, yang paling sering yaitu tipe 16 dan 18. Kanker serviks saat ini masih merupakan penyebab kematian kedua akibat kanker pada wanita di dunia, terlebih di Negara berkembang, termasuk Indonesia untuk wanita usia subur (WUS) disekitar umur 15-44 tahun (Wright *et al.*, 2013; Anggraini, 2015; Astuti, 2017). Menurut data dari World Health Organization (WHO) kasus kanker serviks yang terjadi setiap tahun mencapai 466.000 kasus dan dilaporkan sebanyak 231.000 orang dari kasus tersebut meninggal dunia. Di Indonesia sendiri angka kejadian kanker serviks terbanyak terdapat pada Provinsi Jawa Timur dan Jawa Tengah (Depkes RI, 2016). Di Indonesia, sebanyak 40.000 penderita kanker serviks baru bertambah setiap tahunnya (Rasjadi, 2009). Berdasarkan penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa banyak pasien yang meninggal karena kanker serviks dikarenakan oleh gejala yang tidak terasa dan kurangnya kesadaran para wanita untuk memeriksakan kesehatan dirinya (Astuti, 2017).

Pengobatan utama untuk kanker serviks untuk saat ini adalah dengan melakukan kemoterapi. Kemoterapi adalah pengobatan kanker dengan menggunakan obat ataupun hormon. Kemoterapi sangat efektif baik untuk kanker yang sudah menyebar maupun kanker yang terlokalisir pada suatu jaringan. Sebagai contoh kemoterapi yang sering dipakai untuk pengobatan kanker serviks yaitu *5-Fluorouracil (5-FU)* (Muhayanah *et al.*, 2016).

5-FU merupakan agen kemoterapi antimetabolit. 5-FU dinilai baik untuk pengobatan kanker serviks dalam monoterapi maupun kombinasi dengan agen kemoterapi lainnya. 5-FU bekerja dengan cara menghambat sintesis normal dari DNA maupun RNA. 5-FU diubah terlebih dahulu menjadi bahan metabolit aktif yaitu *5-Fluoro-2'-deoxyuridine-5'-monophosphate* (FdUMP), *5-Fluoro-2'-deoxyuridine-5'-triphosphate* (FdUTP), dan *5-Fluorouridine-5'-triphosphate* (FUTP) yang akan mengganggu sintesis DNA, RNA, dan *thymidylate synthase*.

Disamping aktivitas 5-FU yang dapat digunakan sebagai agen anti kanker, 5-FU juga diketahui memiliki efek samping yang cukup banyak. Efek samping yang paling sering diderita pasien yaitu diare, muntah, mual, sariawan, nafsu makan menurun, fotosensitifitas, *metallic taste*, neutropenia, trombositopenia, stomatitis, dan kardiotoxik (Thomas *et al.*, 2016; Endharti *et al.*, 2016).

Dengan diberikannya terapi kombinasi obat kanker, pengobatan kanker menjadi lebih efektif. Fungsi dari terapi kombinasi adalah menggunakan obat dengan mekanisme kerja yang berbeda yang akan mengurangi resistansi obat. Jika kedua obat yang diberikan memiliki mekanisme yang berbeda, dosis tiap obat dapat dikurangi sesuai dosis optimalnya dan mengurangi efek samping dari masing-masing obat (Pinto *et al.*, 2018). Efek dari ekstrak bahan alam dapat dijadikan sebagai pilihan alternatif potensial yang dapat digunakan sebagai agen terapi kombinasi jika dikombinasikan dengan obat kemoterapi. Hal ini didasarkan karena adanya obat kanker yang pada mulanya diambil dari bahan alam, yaitu vinkristin dan vinblastin (Komalasari, 2017). Salah satu bahan alam yang berpotensi untuk digunakan sebagai obat anti kanker adalah benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*).

Benalu mangga dapat menjadi bahan alternatif yang berpotensi untuk mengobati kanker karena mengandung sebuah senyawa kuersetin (Nurfaat, 2016). Kuersetin yang terdapat dalam ekstrak ethanol daun benalu mangga diketahui memiliki efek proapoptosis, *cell signaling*, antiproliferatif, dan *growth suppression* pada sel kanker (Brito *et al.*, 2015). Kuersetin dapat bertindak sebagai inhibitor terhadap *focal adhesion kinase* (FAK) pada mekanisme kanker serviks (Kurniasih, *et al.*, 2015). Kuersetin menekan fosforilasi dari FAK yang berperan dalam menginduksi metastasis sel kanker (Cao *et al.*, 2015). Inhibisi dari FAK juga menekan progresifitas sel kanker (Sulzmaier *et al.*, 2014), sehingga kuersetin pada benalu mangga diduga bisa menjadi agen terapi kombinasi 5-FU untuk pengobatan kanker serviks. Salah satu cara untuk mengukur potensi kuersetin sebagai agen terapi kombinasi 5-FU adalah dengan melakukan *molecular docking*.

Molecular docking adalah salah satu teknik biokomputasi atau *in silico* untuk memprediksi interaksi energi antara dua molekul, yaitu ligan dengan reseptornya. Interaksi antara reseptor dengan ligan dapat berupa ikatan protein-protein, protein-obat, protein-DNA, ataupun protein-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 merupakan 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).

Dari uraian diatas, perlu dilakukan penelitian untuk mengukur *binding affinity* dari FAK-kuersetin dan FAK-ligan kontrol secara *in silico* dengan *molecular docking* untuk mengetahui lebih lanjut apakah efek kuersetin sebagai terapi kombinasi 5-FU khususnya pada kanker serviks.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah kuersetin memiliki potensi ikatan yang baik dengan FAK sehingga dapat berpotensi menjadi agen terapi kombinasi 5-FU untuk pengobatan kanker serviks?

Sub Rumusan Masalah

1. Berapa nilai *binding affinity* antara 5-FU dengan enzim *thymidylate synthase* secara *in silico*?
2. Apakah kuersetin dapat berikatan dengan FAK secara *in silico*?
3. Berapa nilai *binding affinity* antara kuersetin dengan FAK secara *in silico*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui afinitas kuersetin dalam ekstrak daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) dengan FAK sebagai agen terapi kombinasi 5-FU pada kanker serviks secara *in silico*.

1.3.2 Tujuan Khusus

- 1) Mengukur nilai *binding affinity* 5-FU terhadap *thymidylate synthase* pada sel kanker serviks secara *in silico*.
- 2) Mengukur nilai *binding affinity* kuersetin dalam ekstrak daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) terhadap FAK pada sel kanker serviks secara *in silico*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

Membantu dalam perkembangan ilmu tentang herbal yang dapat digunakan sebagai anti kanker khususnya untuk kanker serviks.

1.4.2 Manfaat Praktis

Memberi informasi kepada masyarakat bahwa ekstrak daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) berpotensi sebagai agen terapi kombinasi 5-FU pada pengobatan kanker serviks.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kanker

Kanker adalah suatu kelompok penyakit yang dapat menyerang seluruh bagian tubuh. Kanker juga dikenal dengan istilah lain yaitu tumor ganas atau neoplasma. Kanker sendiri diidentikan dengan pertumbuhan sel-sel tubuh secara abnormal dan melampaui batas (tumbuh secara cepat dan tidak terkendali). Kanker menyerang sebagian sel-sel tubuh pada awalnya lalu akan menyebar ke sel-sel tubuh yang lain. Peristiwa ini dinamakan metastasis. Metastasis merupakan penyebab kematian yang paling sering terjadi pada kanker (WHO, 2013).

Pertumbuhan sel kanker yang tidak terkendali dikarenakan adanya kerusakan terhadap *Deoxyribose Nucleic Acid* (DNA), sehingga menyebabkan mutasi pada suatu gen yang berperan penting dalam mengontrol pembelahan sel (Sunaryati, 2011). Pada mulanya, sel kanker adalah sel normal yang melalui proses transformasi yang mana terdiri dari tahap inisiasi dan tahap promosi. Pada tahap inisiasi inilah 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 Serviks

2.2.1 Pengertian Kanker Serviks

Kanker serviks adalah kanker yang terdapat pada serviks atau leher rahim, yaitu bagian bawah rahim yang menghubungkan rahim dengan vagina (Lumowa *et al.*, 2015). Kanker serviks paling banyak disebabkan

oleh infeksi *Human Papiloma Virus* (HPV) melalui transmisi seksual (Fang *et al.*, 2014). HPV tipe 16 dan 18 merupakan tipe HPV karsinogenik yang paling sering dijumpai dan sering menimbulkan kanker serviks (Novel *et al.* 2010). Pada dasarnya infeksi HPV ini bukan masalah dan virus ini akan hilang dengan sendirinya dalam beberapa bulan, namun jika terjadi infeksi persisten oleh *high-risk* HPV (terutama tipe 16) akan menyebabkan kanker serviks (Crosbie *et al.*, 2013). 90% kanker serviks berasal dari sel skuamosa dan 10% sisanya berasal dari sel kelenjar yang menghasilkan lendir (Novel *et al.*, 2010). Namun akhir-akhir ini angka kejadian adenokarsinoma serviks makin sering, sedangkan angka kejadian karsinoma sel skuamosa menurun (Zaloudek, 2010).

2.2.2 Epidemiologi

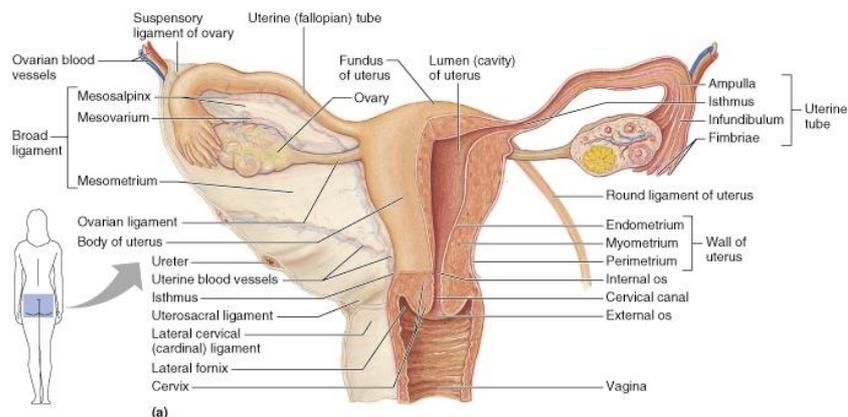
Kanker serviks termasuk jenis kanker pada perempuan yang dapat menimbulkan kematian terbanyak dari seluruh penyakit kanker di negara berkembang (Lasut *et al.*, 2015). Kanker serviks ini banyak terjadi pada negara Amerika Latin, Afrika, dan negara-negara berkembang lainnya, termasuk Indonesia. Terlebih untuk perempuan dengan keturunan Etnis Jawa memiliki angka kejadian lebih tinggi daripada keturunan etnis-etnis lainnya.

Kanker serviks di negara berkembang menempati urutan pertama kanker yang paling sering diderita oleh wanita. Untuk wilayah ASEAN, insidens kanker serviks di Singapore sebesar 25,0 pada ras Cina; 17,8 pada ras Melayu; dan Thailand sebesar 23,7 per 100.000 penduduk. Di Indonesia, sebanyak 40.000 penderita kanker serviks baru bertambah setiap tahunnya.

Menurut data kanker berbasis patologi di 13 pusat laboratorium patologi, kanker serviks merupakan penyakit kanker yang memiliki jumlah penderita terbanyak di Indonesia, yaitu lebih kurang 36%. Dari data 17 rumah sakit di Jakarta 1977, kanker serviks menduduki urutan pertama, yaitu 432 kasus di antara 918 kanker pada perempuan. Di Rumah Sakit Dr. Cipto Mangunkusumo, frekuensi kanker serviks sebesar 76,2% di antara kanker ginekologi. Terbanyak pasien datang pada stadium lanjut, yaitu stadium IIB-IVB, sebanyak 66,4%. Kasus dengan stadium IIIB, yaitu stadium dengan gangguan fungsi ginjal, sebanyak 37,3% atau lebih dari sepertiga kasus. Angka kesintasan pada wanita dengan lesi pre-invasif hampir 100%. Angka kesintasan 1 dan 5 tahun masing-masing sebesar 88% dan 73%. Apabila dideteksi pada stadium awal, kanker serviks invasif merupakan kanker yang paling berhasil diterapi, dengan angka kesintasan 5 tahun sebesar 92% untuk kanker lokal. Keterlambatan diagnosis pada stadium lanjut, keadaan umum yang lemah, status sosial ekonomi yang rendah, keterbatasan sumber daya, keterbatasan sarana dan prasarana, jenis histopatologi, dan derajat pendidikan ikut serta dalam menentukan prognosis dari penderita (Rasjidi, 2009).

2.2.3 Anatomi Serviks

Serviks atau leher rahim merupakan organ reproduksi wanita yang terletak pada sepertiga bawah uterus atau rahim. Serviks memiliki tubulus (saluran berbentuk tabung) yang memanjang hingga bagian atas vagina. Serviks berbentuk silinder yang terdiri dari tulang rawan dan ditutupi oleh jaringan halus, lembab, dan perkiraan tebalnya sekitar 1 inchi. Serviks dibagi menjadi 2 bagian, endoserviks dan ektoserviks (Hatta, 2017).



Copyright © 2001 Benjamin Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman, Inc.

Gambar 2.1 Anatomi Serviks

Keterangan: Gambar ini merupakan anatomi dari organ serviks. Serviks terletak di atas vagina dan memiliki bentuk menyerupai tabung. Fungsi dari serviks ini antara lain untuk menghasilkan lendir, sebagai jalan keluar darah menstruasi, dan membantu jalannya sel sperma.

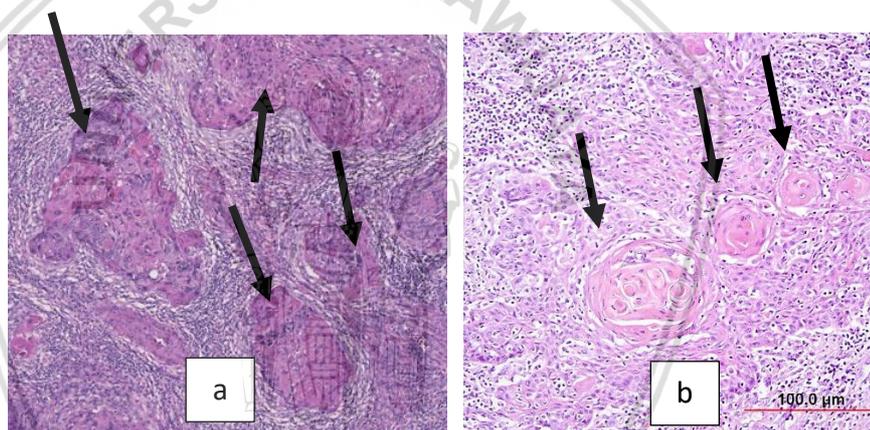
2.2.4 Gambaran Histopatologi Kanker Serviks

Gambaran histopatologi sel kanker serviks terbanyak adalah karsinoma skuamosa. Ditandai dengan sel-sel tumor ganas yang tersusun dalam pulau-pulau solid, infiltratif diantara stroma jaringan ikat. Sel tumor berinti pleiomorfik dengan kromatin kasar dan anak inti terlihat jelas. Didapatkan struktur yang berbentuk seperti pusaran yang disebut *keratin pearls*. Dapat ditemukan pula gambaran *amyloid*, *signet ring cells*, *melanin granules* (Perunovic *et al.*, 2018).



Gambar 2.2 Gambaran Makroskopis Kanker Serviks Karsinoma Skuamosa

Keterangan: Gambar PA (a) menunjukkan kanker serviks *Stage I*, didapatkan sel-sel abnormal masih berada dalam serviks dan (b) menunjukkan kanker serviks *Stage III*, didapatkan sel-sel abnormal yang sudah meluas hingga ke vagina bawah.



Gambar 2.3 Gambaran Histopatologi Kanker Serviks

Keterangan: Gambar histopatologi dari kanker serviks dengan pulasan HE didapatkan gambaran pulau-pulau solid dan infiltrative diantara stroma jaringan ikat (a) serta ditemukannya struktur *keratin pearls* seperti yang ditunjuk anak panah (b).

2.2.5 Mekanisme Kanker Serviks

Kanker disebabkan oleh mutasinya gen yang mengatur dalam pembelahan dan pertumbuhan sel. Kanker mutasi banyak yang berasal dari pengaruh-pengaruh lingkungan seperti karsinogen kimiawi, sinar-x, atau virus-virus. Perubahan sel normal menjadi sel kanker pada garis besarnya terbagi ke dalam 2 tahap, yaitu tahap inisiasi dan promosi. Tahap inisiasi adalah tahap dimana adanya suatu agen kimiawi, radiasi, atau virus

merangsang sel yang normal dan merubahnya menjadi sel ganas yang tak terkendali. Sedangkan tahap promosi adalah tahap dimana sel-sel normal mengalami pertumbuhan dan pembelahan sel yang tak terkendali sehingga menyebar ke seluruh tubuh.

Di dalam sel *malignant* terdapat kromosom rusak dan menempel di tempat yang salah. Protoonkogen yang merupakan gen normal yang ketika terganggu dapat berubah menjadi onkogen yang berakhir pada daerah sambungan dapat terletak dekat dengan suatu promoter aktif yang meningkatkan transkripsi gen. Bisa juga saat protoonkogen berada di bawah control promoter yang lebih aktif melalui transposisi gen atau promoter dalam kromosom. Kemungkinan ketiga adalah terjadinya mutasi titik yang mengubah protein tersebut menjadi lebih aktif atau lebih resisten terhadap degradasi. Semua mekanisme tersebut dalam menstimulasi sel-sel normal menjadi suatu keganasan.

Selain mutasi, dalam tubuh juga terdapat gen yang dapat menghambat pertumbuhan yang abnormal yaitu gen tumor supresor. Namun jika ada mutasi terhadap gen tumor supresor maka dapat menyebabkan suatu keganasan. Gen tumor supresor yaitu gen p53 atau gen Ras. Gen Ras menghasilkan protein G yang mengirimkan sinyal pertumbuhan dari reseptor faktor pertumbuhan pada membran plasma ke protein kinase yang akan menstimulasi siklus sel. Protoonkogen akan meningkatkan pertumbuhan sel meskipun tidak ada faktor pertumbuhan. Kerusakan pada DNA akan menstimulasi ekspresi gen p53 (faktor transkripsi).

Pada mulanya HPV akan menginfeksi sel epitel lapisan basal dan mempengaruhi proliferasi sel secara berlebihan yang akan menjadi kanker. HPV yang paling sering ditemukan di kanker serviks adalah HPV tipe 16 dan tipe 18. HPV tipe 16 tidak terdeteksi secara tunggal, biasanya bersamaan dengan genotipe lain, seperti HPV tipe 18 dan begitu juga sebaliknya. Infeksi HPV ditandai dengan perubahan morfologi dan membuat pembelahan sel tidak terkendali akibat percepatan proliferasi dan terhambatnya diferensiasi sel. Sifat kelainan ini jinak, berbatas tegas, dan jaringannya normal. Di epitel bisa terdapat sampai 1.000 salinan genom virus HPV.

Secara seluler mekanisme kanker serviks berkaitan dengan siklus sel yang diekspresikan oleh HPV. Protein utama yang terkait dengan karsinogen adalah E6 dan E7. Karena genom HPV yang berbentuk sirkuler, saat terintegrasi akan membentuk linear dan terpotong antara gen E1 dan E2. Saat berintegrasi dengan DNA manusia, gen E2 hilang dan menstimulasi E6 dan E7 berkaitan dengan gen p53 dan pRB yang membuat gen p53 kehilangan fungsinya di fase G1 sehingga terjadi pembelahan abnormal dan tak terkendali. E6 akan berhubungan dengan paxillin yang sebelumnya terfosforilasi oleh FAK dan membentuk kompleks E6-paxillin (Pasapera *et al.*, 2010; Novel *et al.*, 2010). Kompleks E6-paxillin berkontribusi pada transformasi sel (Brimer *et al.*, 2014). Inhibisi p53 oleh E6 juga dapat menghambat apoptosis (Tungteakkhun dan Duerksen-Hughes, 2008). E7 mengganggu ikatan pRB dengan E2F karena E7 akan mendegradasi pRB sehingga E2F bebas, faktor transkripsi yang berperan pada transisi fase G1 ke fase S, dikeluarkan dan mendorong replikasi serta

pembelahan sel. Ikatan E7 dan pRB juga mengakibatkan instabilitas kromosom (Tomaic, 2016). Manifestasi akhir dari perkembangan sel kanker dimulai dengan invasi ke dalam jaringan sekitarnya atau yang biasa dikenal dengan istilah metastase (Novel *et al.*, 2010).

2.2.6 Klasifikasi Kanker Serviks

Klasifikasi kanker serviks berdasarkan *staging* nya sebagai berikut:

Tabel 2.1 Klasifikasi Kanker Serviks Berdasarkan Staging FIGO 2009

Tingkat	Kriteria
0	Kanker in situ
I	Karsinoma yang hanya bisa menyerang serviks (tanpa bisa mengenali ekstensi ke corpus)
IA	Karsinoma serviks berdasar pemeriksaan mikroskopis, dengan kedalaman invasi < 5 mm dan ekstensi sebesar > 7 mm
IA1	Invasi stroma sedalam \leq 3 mm dan invasi horizontal \leq 7 mm
IA2	Invasi stroma sedalam > 3 mm dan invasi horizontal > 7 mm
IB	Lesi yang nampak secara klinis, terbatas pada serviks uteri atau kanker preklinis yang lebih besar daripada stadium IA
IB1	Lesi yang nampak \leq 4 cm
IB2	Lesi yang nampak > 4 cm
II	Karsinoma serviks menyerang di luar rahim, tetapi tidak ke dinding pelvis atau sepertiga bagian bawah vagina
IIA	Tanpa invasi ke parametrium
IIA1	Lesi yang nampak \leq 4 cm
IIA2	Lesi yang nampak > 4 cm
IIB	Invasi ke parametrium
III	Tumor meluas ke dinding pelvis dan/atau melibatkan sepertiga bawah vagina dan/atau menyebabkan hidronefrosis atau merusak ginjal
IIIA	Tumor melibatkan sepertiga bawah vagina, tanpa ekstensi ke dinding pelvis
IIIB	Ekstensi ke dinding pelvis dan atau hidronefrosis datau merusak ginjal
IV	Karsinoma yang meluas ke pelvis sejati atau telah melibatkan mukosa kandung kemih atau rektum
IVA	Pertumbuhannya yang menyebar ke organ-organ sekitar
IVB	Menyebar ke organ yang jauh

Keterangan: Tabel ini merupakan klasifikasi kanker serviks berdasarkan staging FIGO 2009. Kanker serviks dalam perkembangannya diklasifikasikan menjadi berbagai macam tingkat.

2.2.7 Faktor Risiko Kanker Serviks

Ada beberapa faktor yang meningkatkan angka kejadian terjadinya kanker serviks, diantaranya adalah;

a. Usia Reproduksi

Usia reproduksi ternyata berperan penting dalam terjadinya kanker serviks. Wanita yang mengalami kanker serviks usianya berkisar antara 30-60 tahun dan yang terbanyak pada usia 40-45 tahun. Kemungkinan hal ini disebabkan karena butuh waktu sekitar 7-10 tahun untuk kanker bisa diketahui (kanker invasif) (Lembahmanah, 2009).

b. Jumlah Paritas

Jumlah kelahiran lebih dari 3 kali dan jarak antar kelahiran yang berdekatan dapat menjadi faktor risiko terjadinya kanker serviks. Hal ini dihubungkan dengan pernikahan di usia muda serta faktor ekonomi yang rendah juga kebersihan yang kurang terjaga. Angka kejadian kanker serviks banyak ditemukan pada wanita yang pernah melahirkan dibandingkan dengan yang belum pernah melahirkan, terutama wanita yang melahirkan lebih dari 3 kali (Lembahmanah, 2009).

c. Hubungan Seks Pada Usia Muda

Berhubungan seks pada usia muda dapat meningkatkan risiko terjadinya kanker serviks, terlebih jika pada usia dibawah 17 tahun. Usia 17-20 tahun adalah usia yang rentan untuk berhubungan seksual karena tingginya proses metaplasia pada usia pubertas, sehingga jika ada infeksi akan sangat mudah sel-sel tersebut berubah menjadi displasia dan menjadi suatu keganasan. Dan juga sel-sel epitel vagina wanita dibawah usia 20 tahun sangat rentan terhadap zat-zat karsinogenik yang ditularkan melalui hubungan seksual (Lembahmanah., 2009).

d. Tingkat Pendidikan

Tingkat pendidikan seseorang dapat berhubungan dengan didapatnya informasi dan edukasi yang lebih tentang segala sesuatu. Orang dengan pendidikan rendah dapat mempengaruhi sikap dan perilaku terhadap kehidupannya, seperti hidup sehat. Orang dengan pendidikan rendah akan kurang mengerti bagaimana harus menjaga kebersihan alat reproduksinya, umur ideal untuk berhubungan seksual, dan sebagainya (Lembahmanah, 2009).

e. Penggunaan Kontrasepsi Oral

Penggunaan kontrasepsi oral jangka panjang (lebih dari 5 tahun) masih menjadi perdebatan di antara peneliti. Ada sebagian yang tidak membenarkan adanya hubungan antara mengurangi faktor risiko dan mengatur kegiatan seksual (Lembahmanah, 2009).

f. Riwayat Keluarga

Adanya saudara perempuan atau ibu yang menderita kanker serviks dapat meningkatkan risiko terjadinya kanker serviks 2-3 kali. Diduga penyebabnya adalah resistensi tubuh terhadap kanker serviks (Lembahmanah, 2009).

g. Partner Hubungan Seksual

Wanita yang sering berganti-ganti pasangan meningkatkan terjadinya kanker serviks. Selain itu, wanita yang memiliki pasangan seks yang memiliki pasangan seks yang berbeda-beda juga rentan terkena kanker serviks. Berhubungan seksual dengan pria yang istrinya meninggal karena kanker serviks juga meningkatkan risiko terjadinya kanker serviks (Rasjidi, 2009).

h. Merokok

Wanita yang merokok meningkatkan risiko terjadinya kanker serviks hingga 2 kali lipat dibandingkan wanita yang tidak merokok. Zat-zat yang terkandung pada rokok terdapat pada lender serviks sehingga akan mengurangi daya tahan serviks disamping ko-karsinogen infeksi virus (Rasjidi, 2009).

i. Diet

Wanita yang kekurangan zat gizi asam folat dapat meningkatkan risiko terjadinya kanker serviks. Hal yang sama juga dapat terjadi pada wanita yang kurang mengonsumsi beta karoten dan retinol (vitamin A) (Lembahmanah, 2009).

j. Etnis dan Faktor Sosial

Wanita dengan kelas ekonomi paling rendah dapat meningkatkan risiko terjadinya kanker serviks 5 kali lebih tinggi daripada wanita dengan kelas ekonomi tertinggi. Di Amerika ras negro lebih banyak didapatkan menderita kanker serviks dibanding ras kulit putih. Pekerjaan juga dapat menjadi faktor risiko kanker serviks, terlebih pada pekerjaan yang sering terkena debu, bahan kimia, oli mesin, dll.

k. Trauma kronis pada serviks

l. Pemakaian dietilstilbestrol (DES) pada ibu hamil untuk mencegah keguguran

m. Gangguan sistem kekebalan tubuh

n. Infeksi herpes genitalis atau klamidia bertahun-tahun (Lembahmanah, 2009)

o. Jarang atau tidak pernah melakukan *pap smear* (Triyanti, 2016)

2.2.8 Diagnosis Kanker Serviks

Diagnosis kanker serviks ditegakkan dari anamnesis dan pemeriksaan fisik. Pemeriksaan fisik yang dilakukan terdiri dari inspeksi, kolposkopi, biopsi serviks, sistoskopi, rektoskopi, USG, BNO-IVP, foto toraks dan bone scan, CT scan atau MRI, PET scan. Untuk pemeriksaan sistoskopi dan rektoskopi hanya dilakukan jika stadium kanker serviks IB2 atau di atasnya (Kemenkes, 2015).

2.2.8.1 Tanda dan Gejala Kanker Serviks

Lesi prakanker atau kanker pada stadium dini biasanya asimtomatik dan hanya dapat diketahui dengan pemeriksaan sitologi. Tanda dan gejala yang bisa dilihat yaitu adanya *warts* atau kutil dan yang biasanya dirasakan oleh pasien dapat berupa nyeri pasca berhubungan seksual, nyeri panggul, pendarahan diluar masa haid, keluaranya cairan berbau, dll. Jika kanker sudah mengalami metastase tanda dan gejala yang ditunjukan sesuai dengan organ yang terkena. Contohnya seperti sakit kepala jika metastase ke otak dan batuk darah jika metastase ke paru (Lembahmanah, 2009; Setiawati, 2014).

2.2.8.2 Penegakkan Diagnosis Kanker Serviks

Diagnosis pasti dari kanker serviks hanya bisa ditetapkan dengan hasil dari pemeriksaan histopatologi (Lembahmanah, 2009).

2.2.9 Skrining Kanker Serviks

a. Tes *pap smear*

Tes *pap smear* yang pertama kali diperkenalkan oleh Dr. George Papanicolaou merupakan tes untuk deteksi dini kanker serviks. Tes pap smear merupakan tes sitologi yang mengetahui apakah ada pertumbuhan

abnormal sel pada serviks. Wanita disarankan melakukan tes pap smear rutin 3 tahun sekali setelah mulai berhubungan seks (Ekasari, 2015).

b. Tes IVA

Inspeksi Visual dengan Asam asetat adalah tes yang dilakukan pada serviks dengan menggunakan asam asetat 3-5% untuk mengetahui keabnormalitasan serviks dengan cara melihatnya (Depkes RI, 2009). Tes IVA positif berarti terdapat sel abnormal yang ditandai dengan adanya area putih di sekitar zona transformasi.

c. Kolposkopi

Kolposkopi dilakukan apabila pada tes pap smear ditemukan sel abnormal dan digunakan untuk penentu biopsi (Ekasari, 2015).

d. Biopsi

Jika tes pap smear dan kolposkopi menunjukkan adanya sel abnormal, maka yang selanjutnya dilakukan adalah biopsy. Biopsy adalah pengambilan sedikit jaringan yang selanjutnya akan diteliti oleh ahli patologi (Ekasari, 2015).

2.2.10 Tatalaksana

2.2.10.1 Tatalaksana Lesi Prakanker

Terapi ini dilakukan dengan cara mendestruksi epitel serviks untuk yang selanjutnya pada fase penyembuhan akan diganti dengan epitel skuamosa yang baru;

a. Krioterapi

Destruksi epitel dengan cara membekukannya dalam suhu -20°C dalam 6 menit dengan gas N_2O atau CO_2 .

b. Elektroauter

Dengan melakukan eksisi *loopdiathermy* pada jaringan lesi prakanker pada zona transformasi. Selanjutnya hasil eksisi akan dibawa ke laboratorium patologi untuk diperiksa apakah membutuhkan terapi lanjutan atau tidak.

c. Diatermi Elektrokoagulasi

Dapat mendestruksi hingga 1 cm dalamnya dan lebih luas daripada elektroauter. Namun tindakan ini harus dilakukan dengan anestesi umum.

d. Laser

Sinar yang disemprotkan dari tabung yang berisi gas helium, gas nitrogen, dan gas karbondioksida dengan panjang gelombang 10.6 μ (Kemenkes, 2015).

2.2.10.2 Tatalaksana Kanker Serviks Invasif**1. Konisasi (*Cold Knife Conization*)**

Dilakukan pada stadium 0 sampai dengan stadium IA1 LVSI (*Lymph-Vascular Space Invasion*) negatif.

2. Operasi trakelektomi radikal dan limfadenektomi pelvik

Dilakukan pada stadium IA1 LVSI (*Lymph-Vascular Space Invasion*) positif, IA2, IB1, dan IIA1. Jika operasi tidak bisa dilakukan karena kontraindikasi medis dapat dilakukan Brakhiterapi. Tidak bisa dilakukan pada kanker serviks dengan metastase maupun kanker serviks dengan batas yang tidak jelas.

3. Radiasi (EBRT dan Brakhiterapi)

Untuk stadium IA2, IB1, IIA1, IIB, IIIA, dan IIIB.

4. Neoajuvan Kemoterapi

Untuk mengecilkan massa tumor primer dan mengurangi risiko komplikasi. Untuk stadium IB2, IIA2, dan IIB.

5. Histerektomi ultraradikal

Untuk stadium IIB.

6. Kemoradiasi

Agen kemoradiasi yang sering dipakai adalah cisplastin dan 5-*Fluorouracil* (5-FU). Untuk stadium IIB, IIIA, dan IIIB.

7. Imunoterapi

Untuk meningkatkan daya tahan tubuh pasien kanker serviks.

8. Lain-lain

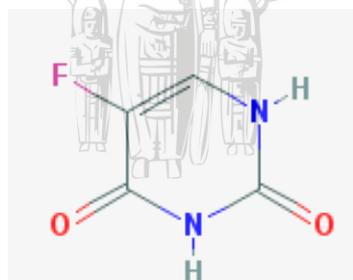
Pada pasien stadium IIIB dengan CKD bisa dilakukan nefrostomi atau hemodialisa jika dibutuhkan, kemoradiasi dengan regimen non cisplastin, atau radiasi. Pada stadium IVA tanpa CKD kolostomi direkomendasikan untuk dilakukan terlebih dahulu, setelah itu kemoradiasi paliatif. Pada stadium IVA dengan CKD, IVB pengobatan yang dilakukan adalah yang bersifat paliatif (Kemenkes, 2015).

2.2.11 Prognosis Kanker Serviks

Prognosis dari kanker serviks tergantung dari stadium kanker tersebut. Umumnya angka kesintasan 5 tahun pada stadium I dapat melebihi 90%, stadium II 60-80%, stadium III 50%, stadium IV tidak sampai 30%. Pada stadium 0 biasanya angka kesintasan 5 tahun mencapai 100% (Lembahmanah, 2009).

2.3 5-Fluorouracil (5-FU)

5-Fluorouracil (5-FU) pertama kali dikenalkan sebagai agen antikanker pada 50 tahun lalu yang sampai sekarang telah dipakai secara luas untuk berbagai macam keganasan, tidak hanya pada kanker serviks namun juga pada kanker kolon, rektal, dan payudara. Obat ini merupakan analog dari urasil pirimidin yang terjadi secara alami, dimetabolisme dengan metabolisme yang sama dengan urasil. (Miura *et al.*, 2010) 5-FU merupakan antimetabolit yang bekerja antagonis dengan timin terhadap aktivitas enzim *thymidylate synthase*. 5-FU adalah prodrug yang menghasilkan efek setelah dikonversi terlebih dahulu menjadi 5-fluorouridine-5'-triphosphate (FUTP) yang bergabung dengan RNA dan mengganggu fungsi RNA dan 5-Fluoro-2'-deoxyuridine 5'-monophosphate (FdUMP) yang menghambat replikasi DNA. 5-FU bekerja sinergis dengan *leucovorin* dan antagonis terhadap *methotexrate* (Thomas *et al.*, 2016).



Gambar 2.4 Senyawa 5-Fluorouracil

Keterangan: Gambar struktur 2 dimensi senyawa 5-FU yang dapat digunakan sebagai obat antikanker. Didapatkan adanya atom fluorin pada karbon ke-5 cincin urasil.

2.3.1 Mekanisme Kerja 5-Fluorouracil

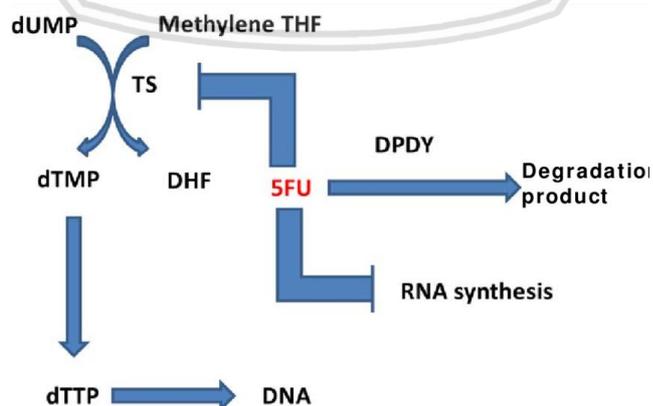
5-Fluorouracil (5-FU) adalah analog dari urasil dengan atom fluorine pada posisi C5 pada rantai hidrogen. 5-FU dengan cepat masuk ke dalam sel menggunakan mekanisme transport terfasilitasi yang sama dengan urasil. 5-FU dikonversi di intrasel menjadi beberapa metabolit aktif

yaitu *5-Fluoro-2'-deoxyuridine-5'-monophosphate* (FdUMP), *5-Fluoro-2'-deoxyuridine-5'-triphosphate* (FdUTP) dan *5-Fluorouridine-5'-triphosphate* (FUTP). Metabolit-metabolit aktif tersebut akan mengganggu sintesis RNA dan *thymidylate synthase*. Enzim yang membatasi laju katabolisme dari 5-FU adalah *Dihydropyrimidine Dihydrogenase* (DPD) yang akan merubah 5-FU menjadi *Dihydrofluorouracil* (DFU). Umumnya 80% 5-FU yang dikonsumsi akan melalui katabolisme di hati, dimana DPD banyak diekspresikan.

Thymidylate synthase mengkatalisis metisasi reduktif dari dUMP menjadi *Deoxythymidine Monophosphate* (dTMP) dengan mengurangi folat *5,10-methylenetetrahydrofolate* (CH₂THF) sebagai donor metil. Reaksi ini menyediakan satu-satunya sumber *de novo* dari timidilat yang diperlukan untuk replikasi dan perbaikan DNA. Protein *thymidylate synthase* 36 kDa berfungsi sebagai dimer, keduanya mengandung subunit yang mengandung *nucleotide-binding site* dan *CH₂THF-binding site*. FdUMP akan terikat pada *nucleotide-binding site* dari *thymidylate synthase* dan membentuk *ternary complex* yang stabil dengan enzim dan CH₂THF, dengan demikian memblokir ikatan substrat dUMP normal dan menghambat sintesis dTMP.

Mekanisme molekuler yang tepat memediasi peristiwa *downstream* inhibisi *thymidylate synthase* belum sepenuhnya diketahui. Depleksi dari hasil dTMP yang selanjutnya diikuti dengan depleksi dTTP yang menginduksi perturbasi pada level *deoxynucleotide* lain (dATP, dGTP, dan dCTP) melalui beberapa *feedback mechanism*. Ketidakseimbangan *deoxynucleotide pool* (rasio dATP/dTTP) akan sangat mengganggu

sintesis DNA dan perbaikannya yang dapat menyebabkan kerusakan DNA parah. Sebagai tambahan, penghambatan *thymidylate synthase* menyebabkan bertambahnya kadar dUMP yang selanjutnya mengarah pada bertambahnya kadar dUTP. Baik dUTP maupun FdUTP dapat salah diintegrasikan ke dalam DNA. Perbaikan urasil dan DNA yang mengandung 5-Fluorouracil oleh *nucleotide excision repair enzyme* Urasil-DNA-glycosylase (UDG) tidak ada gunanya dalam rasio FdUTP/dTTP yang tinggi dan hanya akan menghasilkan penggabungan yang salah dari nukleotida. Siklus yang tidak ada gunanya ini, eksisi, dan perbaikan pada akhirnya mengarah ke kehancuran rantai DNA dan kematian sel. Kerusakan DNA yang disebabkan karena salahnya penggabungan dUTP sangat tergantung pada tingkat pyrophosphatase dUTPase yang membatasi akumulasi dUTP intrasel. Timidilat bisa diselamatkan dari timidin melalui aksi timidin kinase sehingga menurunkan efek defisiensi *thymidylate synthase*. Jalur penyelamatan ini menunjukkan mekanisme potensial dari resistensi terhadap 5-Fluorouracil (Longley *et al.*, 2003).



Gambar 2.5 Mekanisme Kerja 5-FU

Keterangan: Untuk menghasilkan efek sebagai antikanker, 5-FU berkerja dengan menghambat enzim *thymidylate synthase* yang dibutuhkan dalam sintesis DNA.

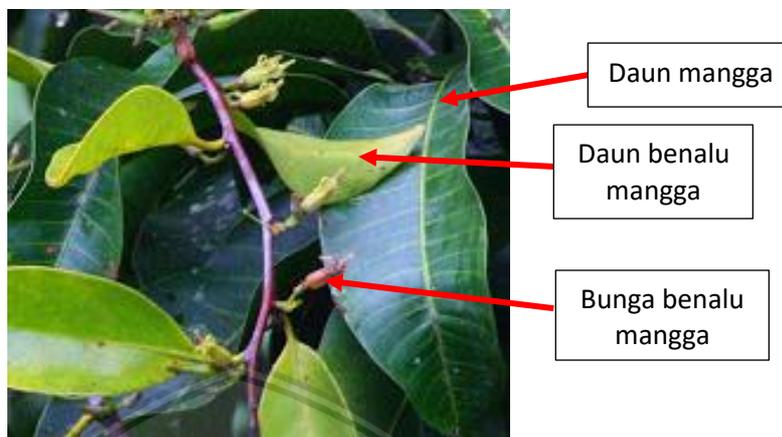
2.4 Terapi Kombinasi

Terapi kombinasi adalah pengobatan dengan menggunakan lebih dari 1 obat. Terapi kombinasi pada kanker telah membuktikan pengobatan kanker yang lebih efektif, menurunkan angka resistensi obat, dan mengurangi dosis toksisitas dari masing-masing obat dibandingkan dengan terapi obat tunggal (Pinto *et al.*, 2018). Terapi kombinasi lebih efektif karena bekerja secara sinergis dengan obat lain dalam mengurangi pertumbuhan sel kanker dan potensi metastasis, menghentikan sel-sel aktif mitosis, dan menginduksi apoptosis (Mokhtari *et al.*, 2017).

2.5 Benalu Mangga

Benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) merupakan tanaman semi-parasit yang menempel pada tumbuhan mangga (*Mangifera indica*) sebagai inangnya. Benalu mangga tersebar luas di negara Cina, Kamboja, India, Indonesia, Laos, Malaysia, Myanmar, Filipina, Vietnam, dan Thailand. Tumbuhan ini berpotensi sebagai obat antikanker dan dapat digunakan sebagai terapi kombinasi karena mengandung kuersetin (Yuliandari, 2017; Endharti *et al.*, 2018). Di Indonesia benalu mangga sering dimanfaatkan untuk obat hipertensi, batuk, diabetes, kanker, diuretik, tukak lambung, cacar, infeksi di kulit, dan setelah melahirkan (Endharti *et al.*, 2016).

2.5.1. Klasifikasi *Dendrophthoe pentandra*



Gambar 2.6 *Dendrophthoe pentandra*

Keterangan: Gambar diatas merupakan gambar dari benalu mangga dan tumbuhan mangga sebagai inangnya. Dari gambar dapat dilihat adanya daun mangga, daun benalu mangga, dan bunga dari benalu mangga.

Adapun klasifikasi ilmiah benalu mangga adalah sebagai berikut;

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Mognoliophyta
Classis	: Mognoliopsida
Sub Classis	: Rosidae
Ordo	: Santalales
Familia	: Loranthaceae
Genus	: <i>Dendrophthoe</i>
Spesies	: <i>Dendrophthoe pentandra</i> (L.) Miq.

(Backer dan Van Den Brink, 1965)

2.5.2 Kandungan *Dendrophthoe pentandra*

Melalui serangkaian proses ilmiah, ditemukan beberapa senyawa yang aktif berperan dalam bidang pengobatan. Pada hasil dari skrining fitokimia ekstrak etanol benalu mangga ditemukan senyawa saponin, tannin, flavonoid, dan triterpenoid (Fitrilia *et al.*, 2015).

2.6 Kuersetin

Kuersetin merupakan kandungan flavonoid utama dari ekstrak daun benalu mangga yang memiliki rumus molekul $C_{15}H_{10}O_7$ 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 2.7 Senyawa Kuersetin

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

2.6.1 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).

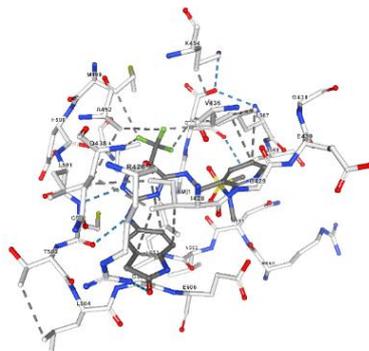
2.6.2 Manfaat Kuersetin

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). Kuersetin bekerja dengan cara menghambat *focal adhesion kinase* (FAK) yang berperan dalam mekanisme kanker serviks (Chakerzhehi *et al.*, 2015).

2.7 Focal Adhesion Kinase (FAK)

Focal Adhesion Kinase (FAK) atau PTK2 adalah non-reseptor tirosin kinase sitoplasmik yang terlibat dalam perkembangan dan progresifitas sel kanker dan metastase sel kanker (Pei *et al.*, 2018). Selain sebagai kinase sitoplasmik, FAK juga memiliki peran di dalam inti sel (Lim, 2013). Ekspresi FAK yang berlebihan dan aktivasi dari FAK sering di temukan di banyak kanker pada manusia. FAK adalah protein yang utama terlibat dalam regulasi sinyal, dimulai dari *integrin mediated cell adhesion sites* ke *extracellular matrix* serta sinyal yang timbul karena aktivasi *growth factor receptors*. FAK akan melanjutkan perjalanan transmisi sinyal ke berbagai target melalui mekanisme *kinase-dependent* atau *kinase-independent* sehingga memainkan peranan penting dalam keberlangsungan hidup, invasi, proliferasi, dan migrasi sel. Belakangan ini, molekul kecil yang dapat menghambat FAK sudah dikembangkan dan terbukti mengurangi progresifitas dari sel kanker dan juga menurunkan angka kejadian metastase terhadap beberapa model penelitian serta efek samping yang dihasilkan juga minimal (Mousson *et al.*, 2018).



Gambar 2.8 Protein *Focal Adhesion Kinase* (FAK)

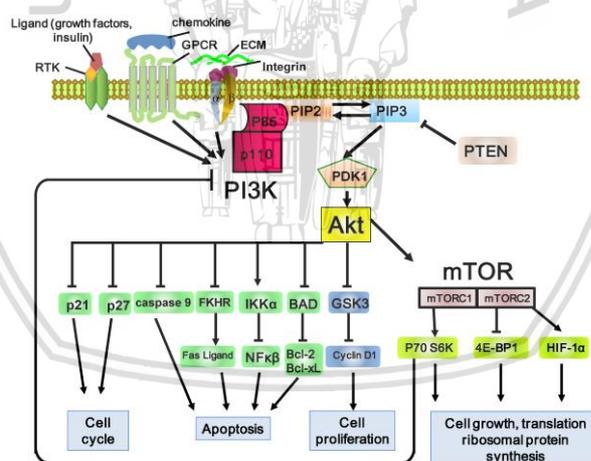
Keterangan: Gambar ini merupakan struktur makromolekul focal adhesi kinase (FAK), kinase yang terlibat dalam adhesi dan proses penyebaran (migrasi) sel.

2.7.1 Mekanisme FAK pada Kanker Serviks

FAK mendorong progresifitas dan metastase dari sel kanker serviks baik dengan melalui jalur *kinase-dependent* maupun *independent*. Salah satu jalur *kinase-dependent* dari FAK yaitu jalur PI3/Akt (Sulzmaier *et al.*, 2014). PI3/Akt bertindak sebagai *down regulator* di jalur sinyal Ras. PI3K yang teraktivasi akan mengubah *phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate* (PIP2) menjadi *phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate* (PIP3) (Manzomerino, 2014). Akumulasi dari PIP3 di permukaan sel menyebabkan aktivasi Akt, *serine-threonine kinase*. *Phosphatase and Tensin Homologue* (PTEN) yang merupakan *tumor suppressor* dapat mendefosforilasi PIP3 membalikkan aktivasi Akt dan mencegah *downstream signaling*. Jika efek inhibisi dari PTEN tidak ada maka Akt akan terfosforilasi dan mengarah ke aktivasi m-Tor. Pada akhirnya terjadi fosforilasi dan aktivasi *downstream signaling* dari 2 molekul yaitu protein ribosomal *S6 kinase 1* (S6k) dan faktor inisiasi translasi sel *eukariotik 4E binding protein 1* (4E-BP1) menyebabkan peningkatan translasi protein-protein yang berkontribusi terhadap pertumbuhan, diferensiasi, proliferasi,

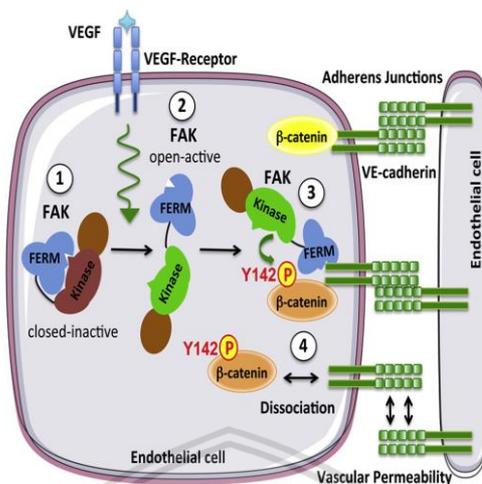
angiogenesis, metabolism, apoptosis, dan pertahanan hidup sel (Bahrami *et al.*, 2017).

FAK di pembuluh darah dapat mendorong proses metastasis dengan cara mendorong fosforilasi dari *Vascular Endothelial Cadherin* (VEC-Y658). Fosforilasi dari VEC-Y658 akan meningkatkan permeabilitas vaskular sehingga dapat memudahkan sel kanker untuk menginvasi pembuluh darah yang selanjutnya akan menyebar ke organ-organ lain melalui aliran darah (metastasis) (Jean *et al.*, 2014). Fosforilasi FAK juga dapat menghambat aktivasi GSK3 yang merupakan supresor tumor (McCubrey *et al.*, 2014). GSK3 inaktif akan meningkatkan ekspresi *Cyclin D1* yang akan mengarah ke proliferasi sel (Shimura *et al.*, 2012).



Gambar 2.9 FAK/PI3/Akt/mTor Signalling Pathway

Keterangan: FAK yang merupakan bagian dari RTK mengaktifkan jalur PI3 yang akan merubah PIP2 menjadi PIP3. Akumulasi dari PIP3 akan mengaktifkan jalur sinyal Akt yang terlibat dalam proses proliferasi sel. Teraktivasinya jalur Akt akan mengaktifkan mTor yang berperan dalam pertumbuhan sel dan sintesis protein ribosomal (translasi).



Gambar 2.10 FAK and VE-Cadherin Pathway

Keterangan: VEGF meningkatkan fosforilasi FAK, penempelan domain FERM FAK ke VE-Cadherin, dan lokalisasi FAK di *cell-cell junction*. FAK akan meregulasi β -Catenin yang akan meningkatkan permeabilitas vascular, sehingga sel kanker dapat bermetastase.

2.8 Molecular Docking

Molecular docking adalah salah satu jenis penelitian *in silico* yang merupakan suatu teknik yang digunakan untuk mempelajari interaksi yang terjadi dari suatu kompleks molekul. *Molecular docking* dapat memprediksikan 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). Metodenya dengan cara mencari posisi optimal ligan terhadap sisi aktif pengikatan dari struktur target (reseptor). *Molecular docking* dapat memprediksi *binding affinity* 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 (Yeturu dan Chandra, 2008). 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 fungsi *scoring* dapat memperkirakan *binding affinity* antara makromolekul dengan ligan (molekul kecil yang memiliki afinitas terhadap makromolekul) (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 pula ikatan dan potensinya dalam memberikan efek pada tubuh (Das *et al.*, 2016). Identifikasi *binding affinity* 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 (Funkhouser, 2007).

Berdasarkan pada interaksi yang terjadi, terdapat beberapa jenis *molecular docking*, yaitu (1) Docking protein-protein, (2) Docking ligan-protein, dan (3) Docking ligan-DNA. Untuk melakukan *molecular docking*, hal pertama yang dibutuhkan adalah struktur tiga dimensi dari ligan (*drug*) dan protein target. Struktur tiga dimensi ligan dapat dimodelkan dengan menggunakan teknik *molecular modelling* sedangkan struktur tiga dimensi protein target dapat ditentukan secara empiris dengan menggunakan teknik *NMR spectroscopy* dan x-

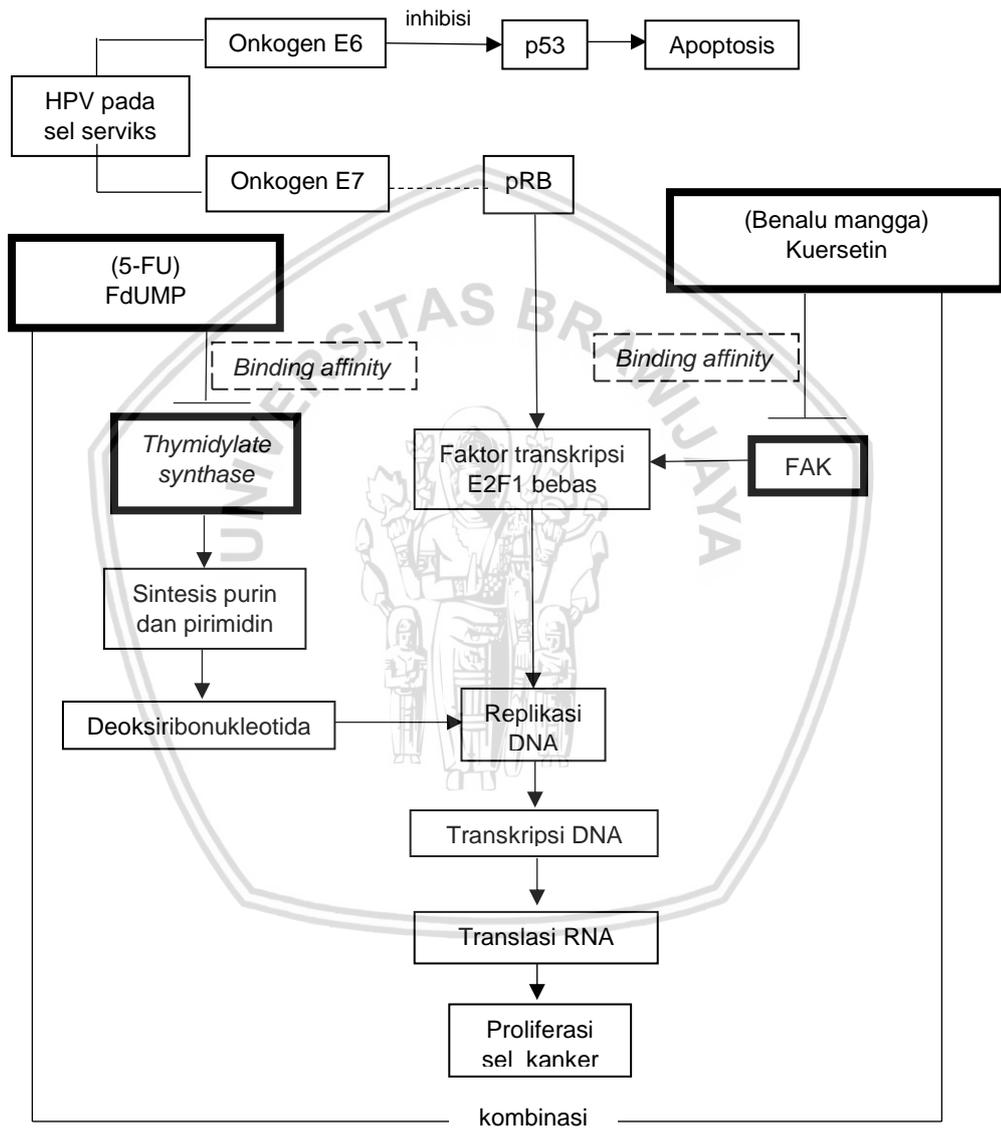
ray crystallography yang terdapat pada *database protein data bank* dan secara *insilico* dengan *homology modeling* (Lucientes, 2004).



BAB 3

KERANGKA KONSEP dan HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Keterangan:

- > : menyebabkan
- | : menghambat
- : berikatan (*binding*)
- : diteliti
- : tidak diteliti

3.2 Deskripsi Kerangka Konsep

Human Papilloma Virus (HPV) memiliki onkogen utama yang telah diketahui berperan dalam proses patogenesis kanker serviks, yaitu E6 dan E7. E6 akan berinteraksi dan menginaktivasi protein p53. Inaktivasi dari p53 menyebabkan tidak terjadinya apoptosis. Sedangkan E7 akan menghambat proses perbaikan sel dengan mekanisme yang berbeda dengan E6, yaitu dengan mengikat protein pRb yang seharusnya berikatan dengan E2F1. Dengan terikatnya E6 ke pRb membuat ikatan pRb dengan E2F1 lepas sehingga banyak E2F1 bebas. E2F1 bebas ini akan merangsang proto-onkogen yang selanjutnya akan terjadi proses transkripsi, replikasi DNA, yang selanjutnya menjadi proliferasi sel kanker dengan pertumbuhan yang tidak terkontrol.

Salah satu yang dapat menghambat kanker serviks dari mekanisme ini adalah *5-Fluorouracil* (5-FU). Mekanisme aktivasi utama 5-FU salah satunya dengan mengkonversi 5-FU menjadi FdUMP. Dalam bentuk FdUMP dapat menghambat kerja enzim *thymidylate synthase* yang ada dalam sintesis pirimidin. Terhambatnya enzim *thymidylate synthase* mengganggu proses sintesis pirimidin yang selanjutnya akan menghambat proses replikasi DNA dan proliferasi dari sel kanker serviks.

Kuersetin adalah salah satu senyawa yang didapatkan dalam ekstrak daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*). Kuersetin juga dapat menghambat mekanisme kanker serviks. Kuersetin bekerja dengan cara menghambat *focal adhesion kinase* (FAK). FAK adalah sebuah protein yang berperan dalam mengatur faktor transkripsi, salah satunya FAK berperan dalam pelepasan E2F1 dari pRb sehingga jumlah E2F1 bebas meningkat yang akan mengarah pada proliferasi sel. Sehingga dengan terhambatnya FAK maka akan menghambat proses transkripsi dan proliferasi sel kanker serviks. Kuersetin dapat bersinergis

dengan 5-FU dalam halnya menghambat mekanisme kanker serviks dengan mekanisme hambatan yang berbeda.

3.3 Hipotesis Penelitian

Kuersetin dalam ekstrak daun benalu mangga memiliki potensi ikatan yang baik dengan *focal adhesion kinase* (FAK) sehingga berpotensi untuk menjadi agen terapi kombinasi 5-FU pada pengobatan kanker serviks.



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental sekunder dimana sampel didapatkan dari *database* PubChem, yang bertujuan untuk mengetahui kekuatan ikatan kuersetin dalam ekstrak daun benalu mangga terhadap *focal adhesion kinase* (FAK) pada sel kanker serviks secara *in silico* yang ke depannya diharapkan dapat menjadi agen terapi kombinasi 5-FU untuk pengobatan kanker serviks.

4.2 Populasi dan Sampel

4.2.1 Populasi

Populasi penelitian ini adalah FAK dan *thymidylate synthase*.

4.2.2 Sampel

Dalam penelitian ini, sampel yang digunakan adalah struktur 3 dimensi dari kuersetin yang terdapat dalam ekstrak daun benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) dan FdUMP yang datanya didapatkan dari *database* PubChem.

4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Ruang Ketahanan Jurnal dan Laboratorium Biokomputasi Fakultas MIPA Universitas Brawijaya, Malang pada bulan Maret 2018 – Agustus 2018.

4.4 Identifikasi Variabel

Variabel yang diteliti pada penelitian ini yaitu *binding affinity* FAK-kuersetin dan seberapa besar nilai *binding affinity* FAK-kuersetin, serta *binding affinity*

Thymidylate Synthase-FdUMP dan besar nilai *bindin affinity Thymidylate Synthase-FdUMP*.

4.5 Bahan dan Alat/Instrumen Penelitian

4.5.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini secara garis besar dibagi menjadi dua, yakni perangkat keras dan perangkat lunak. Perangkat keras yang digunakan berupa satu set laptop dengan spesifikasi : *processor tipe intel® Core™ i3-5005U CPU @ 2.00GHz 2.00 GHz, RAM 4.00 GB, hard disk 500 GB, 64-bit operating system, x64-based processor, Windows 10 Pro*. Sedangkan perangkat lunak yang digunakan adalah PASS Server *online* (<http://www.pharmaexpert.ru/passonline>) untuk memprediksi cara kerja kuersetin, STITCH (<http://stitch.embl.de/>) untuk mengetahui apakah ada ikatan antara FAK-kuersetin, PyRx 0.9 untuk melakukan simulasi penambatan molekuler secara spesifik sehingga didapatkan *binding affinity score*, PyMOL 2.0.6 untuk memisahkan struktur tiga dimensi FAK dengan obat kontrol, memvisualisasikan ikatan kuersetin dengan FAK, dan untuk mengkonversi format .sdf menjadi .pdb agar bisa disimulasikan pada PyRx 0.9, serta aplikasi Ligplot⁺ v.1.4.5 yang merupakan *software* untuk mengetahui baik adanya ikatan hidrogen, hidrofobik, maupun asam amino dari kompleks ikatan FAK-kuersetin yang akan dibandingkan dengan ikatan FAK terhadap ligan kontrol YAM.

4.5.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan meliputi data struktur tiga dimensi dari kuersetin dan FdUMP yang diperoleh dari PubChem dan struktur tiga dimensi dari FAK dan *thymidylate synthase* yang diperoleh dari Uniprot.

4.6 Definisi Operasional

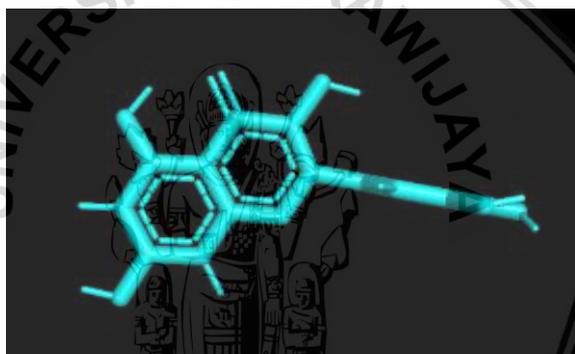
1. Benalu mangga (*Dendrophthoe pentandra*) merupakan tanaman semi-parasit yang menempel pada tumbuhan mangga (*Mangifera indica*) sebagai inangnya (Yuliandari, 2017). Di Indonesia benalu mangga sering dimanfaatkan untuk obat kanker (Endharti et al., 2016).
2. Kuersetin adalah salah satu jenis flavonoid yang merupakan senyawa aglikon yang dapat membentuk ikatan glikogen dengan pasangan glikolnya. Bentuk kompleks glikogen (*quercetin 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.
3. *Focal Adhesion Kinase* (FAK) adalah non-reseptor tirosin kinase sitoplasmik yang terlibat dalam perkembangan dan progresifitas sel kanker dan metastase sel kanker (Pei et al., 2018). Ekspresi FAK yang berlebihan dan aktivasi dari FAK sering di temukan di banyak kanker pada manusia. FAK adalah protein yang utama terlibat dalam regulasi sinyal, dimulai dari *integrin mediated cell adhesion sites* ke *extracellular matrix* serta sinyal yang timbul karena aktivasi *growth factor receptors*. Data struktur FAK didapatkan dari *database* Uniprot.
4. *Molecular docking* merupakan salah satu studi *in silico* 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).
5. *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).

4.7 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 “.sdf”. 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 FAK

Data struktur tiga dimensi FAK yang masih berikatan dengan ligan kontrol diambil dari *database* Uniprot melalui situs <https://www.uniprot.org/uniprot/Q05397> dalam format “.pdb”. Setelah itu struktur tiga dimensi FAK dipisahkan dengan struktur tiga dimensi ligan YAM dengan menggunakan menggunakan perangkat lunak PyMOL 2.0.6 dan disimpan dalam format “.pdb”.



Gambar 4.2 Struktur 3 Dimensi FAK, Molekul Air, dan Ligan YAM

Keterangan: Struktur berupa titik merah yang banyak tersebar adalah molekul air, struktur yang berwarna hijau adalah makromolekul FAK, dan struktur yang berwarna merah terletak di tengah adalah ligan kontrol YAM yang menempel pada makromolekul FAK.



Gambar 4.3 Struktur 3 Dimensi FAK Tanpa Molekul Air dan Ligan Kontrol

Keterangan: Gambar ini adalah makromolekul FAK setelah dipisahkan dari molekul air dan ligan kontrol (YAM) dengan menggunakan aplikasi PyMOL. FAK adalah makromolekul target dari kuersetin yang berpotensi menghambat mekanisme kanker serviks.

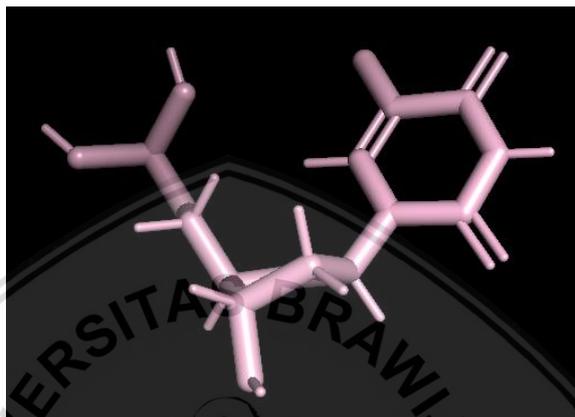


Gambar 4.4 Struktur 3 Dimensi Ligan Kontrol YAM

Keterangan: Gambar ini adalah struktur 3 dimensi ligan kontrol YAM yang telah dipisahkan dari makromolekul FAK dengan aplikasi PyMOL. YAM adalah obat yang sudah terbukti berperan sebagai antikanker dengan cara menginhibisi FAK.

4.7.3 Pencarian dan Preparasi Data FdUMP

Data struktur FdUMP diambil dari PubChem melalui situs <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/8642#section=Top> dalam struktur 3 dimensi yang disimpan dalam format “.sdf”.

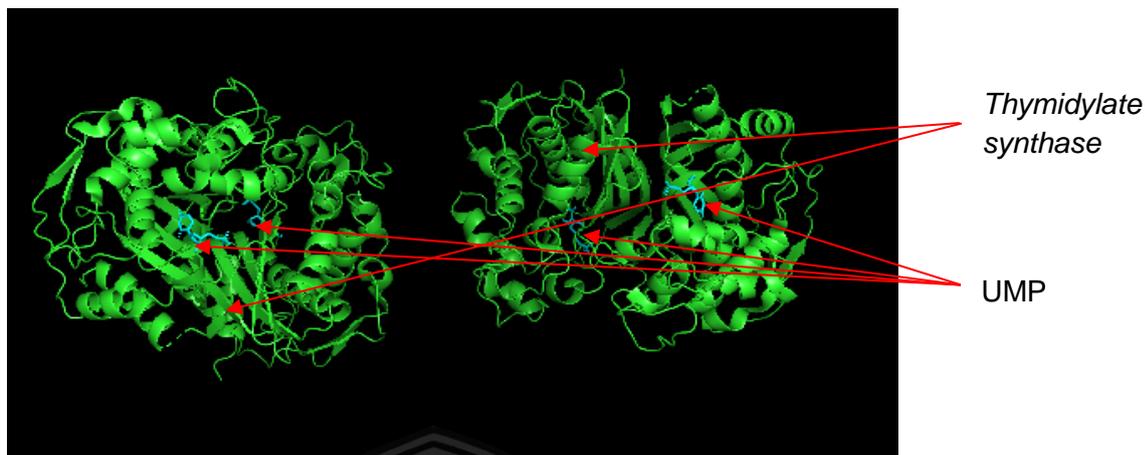


Gambar 4.5 Struktur 3 Dimensi FdUMP

Keterangan: Gambar ini adalah struktur 3 dimensi FdUMP yang diambil dari *database* PubChem. FdUMP adalah salah satu bentuk metabolit aktif dari 5-FU yang dapat berperan sebagai antikanker dengan cara menghambat enzim *thymidylate synthase*.

4.7.4 Pencarian dan Preparasi Data *Thymidylate Synthase*

Data struktur tiga dimensi *thymidylate synthase* yang masih berikatan dengan ligan kontrol diambil dari *database* Uniprot melalui situs <https://www.uniprot.org/uniprot/P04818> dalam format “.pdb”. Setelah itu struktur tiga dimensi FAK dipisahkan dengan struktur tiga dimensi ligan kontrol UMP dengan menggunakan menggunakan perangkat lunak PyMOL 2.0.6 dan disimpan dalam format “.pdb”.



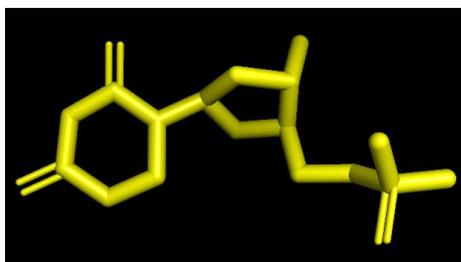
Gambar 4.6 Struktur 3 Dimensi *Thymidylate Synthase* dan Ligan UMP

Keterangan: Gambar ini merupakan struktur 3 dimensi enzim *thymidylate synthase* yang belum dipisahkan dengan ligan kontrol UMP. Struktur yang berwarna hijau merupakan makromolekul *thymidylate synthase*. Sedangkan struktur yang berwarna biru muda merupakan ligan kontrol UMP yang menempel dengan makromolekul *thymidylate synthase*.



Gambar 4.7 Struktur 3 Dimensi *Thymidylate Synthase* Tanpa Ligan UMP

Keterangan: Gambar ini adalah struktur 3 dimensi dari makromolekul *thymidylate synthase* setelah dipisahkan dari ligan kontrol UMP. *Thymidylate synthase* adalah sebuah enzim yang menjadi target FdUMP dalam menghambat kanker serviks.



Gambar 4.8 Struktur 3 Dimensi Ligan Kontrol *Uridine Monophosphate* (UMP)

Keterangan: Gambar ini adalah struktur 3 dimensi dari ligan kontrol UMP yang telah dilepaskan dari makromolekul *thymidylate synthase* dengan aplikasi PyMOL.

4.7.5 Proses *Docking* Protein Kuersetin dengan FAK

Docking protein 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 protein 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. Buka program PyRx 0.9.
2. Pilih "*Vina Wizard*" untuk melakukan proses *docking* dengan Autodock Vina.
3. Klik "*add macromolecules*" pada bagian *vina wizard* untuk memasukkan struktur tiga dimensi FAK. Lalu klik "*add ligand*" untuk memasukkan struktur tiga dimensi kuersetin dan ligan YAM yang sebelumnya sudah dipisahkan dari FAK.
4. Pada bagian *autodock*, klik kanan pada setiap struktur, setelah itu klik "*display*" sehingga semua struktur makromolekul dan ligan terlihat pada ruang "*3D scene*".
5. Pada bagian *molecules*, klik kanan pada kedua ligan (kuersetin dan ligan kontrol), setelah itu klik *display*, dan pilih "*ball and sticks*" dan "*molecular surface*" untuk melihat visualisasi letak kedua ligan tersebut pada "*3D scene*".

6. Klik *forward* pada bagian kanan bawah *Vina wizard*, setelah sesuaikan *grid box* dengan posisi sisi pengikatan dari obat kontrol pada “*3D scene*” sehingga semua sisi dari obat kontrol terletak pada area reaksi yang tepat dalam kubus (*specific docking*).
7. Setelah semua letak ligand sesuai, klik *forward* untuk proses *docking* dan tunggu sampai proses selesai.
8. Klik hasil docking pada *navigator* lalu klik kanan “*save as PDB*” untuk menyimpan gambar struktur kompleks hasil *docking* antara kuersetin dengan FAK.
9. Klik “*save as sdf*” pada kolom *control* untuk menyimpan hasil *binding affinity* yang sudah dalam bentuk excel (.csv).

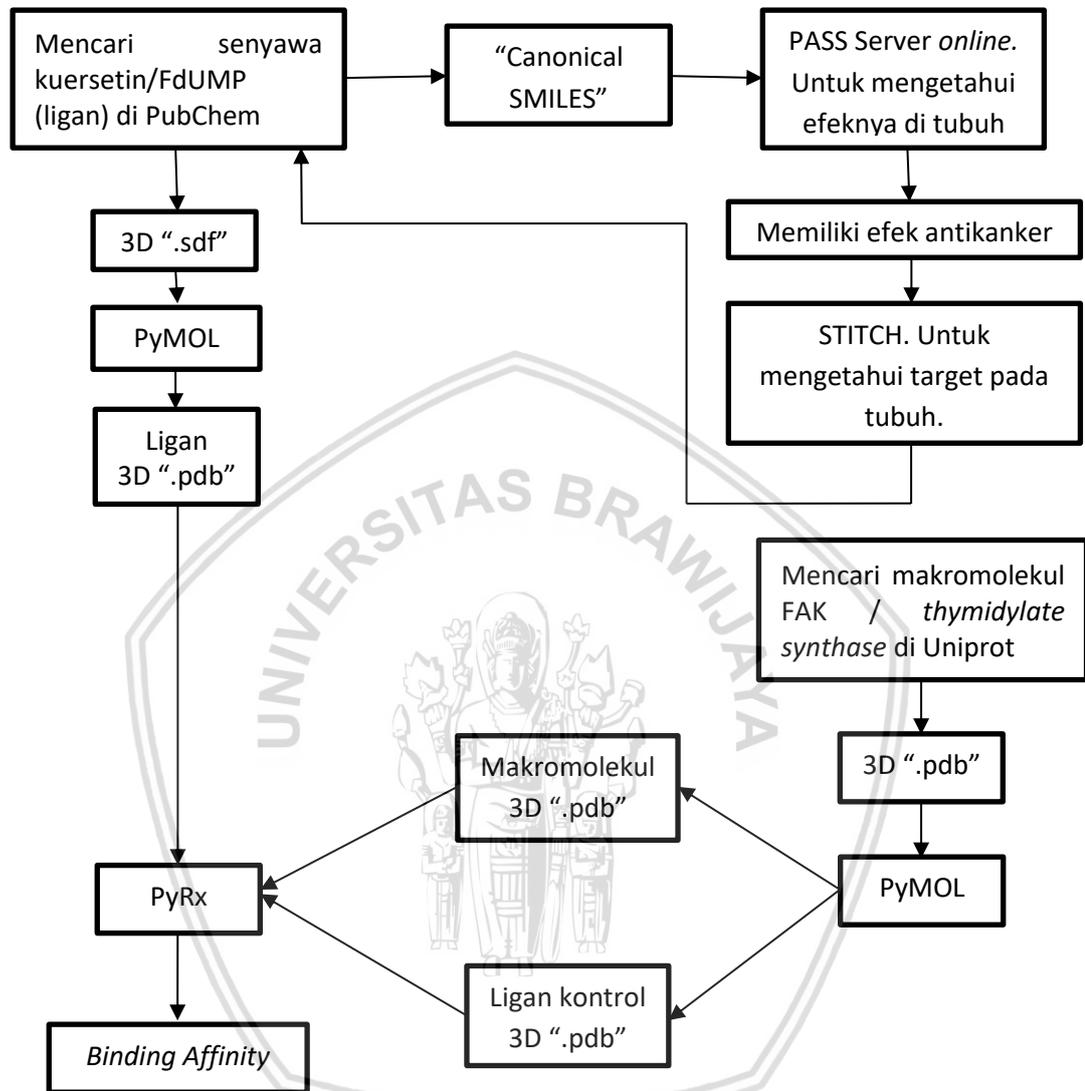
4.7.6 Proses *Docking* Protein FdUMP dengan *Thymidylate Synthase*

Hal yang sama dilakukan seperti cara *docking* kuersetin dengan FAK, hanya saja ligand an makromolekulnya yang diganti. Langkah-langkah yang dilakukan dalam proses *docking* dengan menggunakan perangkat lunak PyRx 0.9 adalah sebagai berikut:

1. Buka program PyRx 0.9.
2. Pilih “*Vina Wizard*” untuk melakukan proses docking dengan Autodock Vina.
3. Klik “*add macromolecules*” pada bagian *vina wizard* untuk memasukkan struktur tiga dimensi *thymidylate synthase*. Lalu klik “*add ligand*” untuk memasukkan struktur tiga dimensi FdUMP dan ligan UMP yang sebelumnya sudah dipisahkan dari *thymidylate synthase*.

4. Pada bagian *autodock*, klik kanan pada setiap struktur, setelah itu klik “*display*” sehingga semua struktur makromolekul dan ligan terlihat pada ruang “*3D scene*”.
5. Pada bagian *molecules*, klik kanan pada kedua ligan (kuersetin dan ligan kontrol), setelah itu klik *display*, dan pilih “*ball and sticks*” dan “*molecular surface*” untuk melihat visualisasi letak kedua ligan tersebut pada “*3D scene*”.
6. Klik *forward* pada bagian kanan bawah *Vina wizard*, setelah sesuaikan *grid box* dengan posisi sisi pengikatan dari obat kontrol pada “*3D scene*” sehingga semua sisi dari obat kontrol terletak pada area reaksi yang tepat dalam kubus (*specific docking*).
7. Setelah semua letak ligan sesuai, klik *forward* untuk proses *docking* dan tunggu sampai proses selesai.
8. Klik hasil docking pada *navigator* lalu klik kanan “*save as PDB*” untuk menyimpan gambar struktur kompleks hasil *docking* antara FdUMP dengan *thymidylate synthase*.
9. Klik “*save as sdf*” 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 perangkat lunak PyRx 0.9 adalah besarnya afinitas ikatan antara ligan dengan makromolekul. Nilai negatif pada *binding affinity* (atau *binding free energy*) mengindikasikan ikatan antara ligan dan makromolekul. Bila nilai *binding affinity* semakin negatif, maka semakin kuat afinitas ikatan antara ligan dan makromolekul. Nilai normal *binding affinity* adalah -7,3 kkal/mol. Suatu *binding affinity* dikatakan kuat ikatannya apabila *score binding affinity* $< -7,3$ kkal/mol (Dallakyan dan Olson, 2015).



BAB 5

HASIL PENELITIAN

5.1 Hasil *Binding Affinity Molecular Docking*

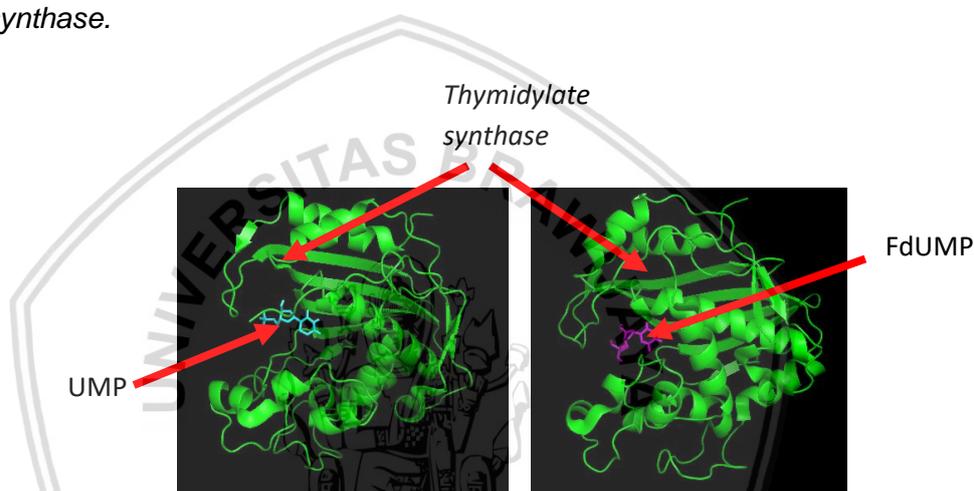
5.1.1 Hasil *Binding Affinity FdUMP* dengan *Thymidylate Synthase*

Molecular docking merupakan suatu prosedur komputasi yang dilakukan untuk meniru sebuah interaksi dari suatu ligan dan protein yang menjadi target ligannya. *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 *thymidylate synthase* yang masih berikatan dengan ligan kontrol yaitu UMP. Kemudian ligan kontrol UMP yang masih menempel pada *thymidylate synthase* dipisahkan dengan menggunakan aplikasi PyMOL 2.0.6 yang selanjutnya akan dijadikan sebagai ligan pembanding dengan FdUMP. Kemudian setelah *thymidylate synthase*, UMP, dan FdUMP 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 *thymidylate synthase* dengan FdUMP adalah -8.0 kkal/ mol. Sedangkan nilai *binding affinity thymidylate synthase* dengan ligan kontrol UMP adalah sebesar -7.6 kkal/mol. Nilai *binding affinity* yang diambil merupakan nilai yang tertinggi setelah dilakukan 9x pengulangan

dengan hasil yang dilampirkan. Dari data tersebut didapatkan bahwa nilai *binding affinity* baik antara *thymidylate synthase* dengan FdUMP maupun *thymidylate synthase* dengan UMP sama-sama memiliki nilai yang sangat baik karena sudah melampaui nilai normal yaitu <-7.3 kkal/mol. Dan nilai *binding affinity* antara *thymidylate synthase* dengan FdUMP lebih tinggi maka ligan FdUMP lebih berpotensi dalam menghambat *thymidylate synthase*.



Gambar 5.1 Struktur Antarmolekul Kompleks *Thymidylate Synthase* dengan UMP dan FdUMP

Keterangan: Struktur dengan warna hijau adalah makromolekul *thymidylate synthase*, struktur dengan warna biru adalah ligan UMP, dan struktur berwarna ungu adalah ligan FdUMP.

Tabel 5.1 Nilai *Binding Affinity Thymidylate Synthase* dengan Ligan

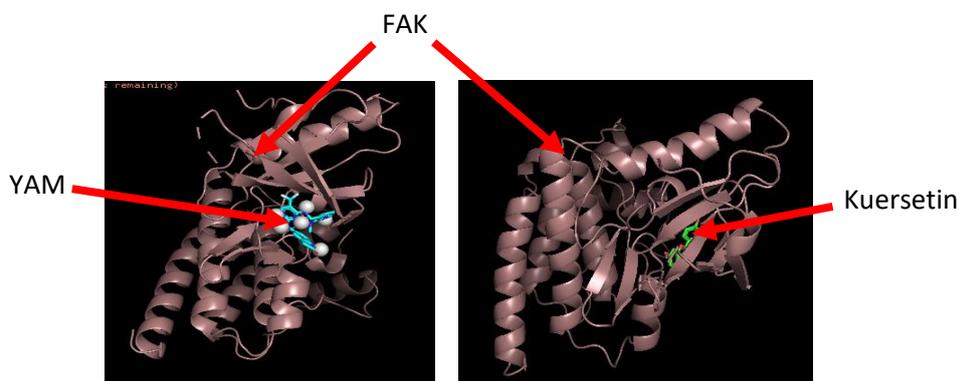
Ligan yang Berikatan dengan Makromolekul <i>Thymidylate Synthase</i>	<i>Binding Affinity</i> (kkal/ mol)
UMP (ligan kontrol)	-7.6
FdUMP	-8.0

Keterangan: Nilai yang ada pada tabel diperoleh dengan cara melakukan *docking* melalui aplikasi PyRx 0.9. Didapatkan nilai *binding affinity* antara 5-FU dan UMP sebesar -7.6 kkal/mol dan juga nilai *binding affinity* antara 5-FU dan FdUMP sebesar -8.0 kkal/mol.

5.1.2 Hasil *Binding Affinity* Kuersetin dengan FAK

Penelitian ini dilakukan seperti yang telah dilakukan antara *thymidylate synthase* dengan ligan UMP dan FdUMP, pada proses ini dimulai dengan mengambil protein target *focal adhesion kinase* (FAK) yang masih berikatan dengan ligan kontrol yaitu YAM. Kemudian ligan kontrol YAM yang masih menempel pada FAK dipisahkan dengan menggunakan aplikasi PyMOL 2.0.6 yang selanjutnya akan dijadikan sebagai ligan pembanding dengan kuersetin. Kemudian setelah FAK, YAM, 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 FAK dengan kuersetin adalah -8.9 kkal/ mol. Sedangkan nilai *binding affinity* FAK dengan ligan kontrol YAM adalah sebesar -10.9 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 FAK dengan kuersetin maupun FAK dengan YAM sama-sama memiliki nilai yang sangat baik karena sudah melampaui batas nilai normal yaitu <-7.3 kkal/mol. Namun dikarenakan nilai *binding affinity* antara FAK dengan YAM lebih tinggi maka ligan yang lebih berikatan dengan FAK adalah YAM. Namun kuersetin juga dapat berikatan dengan YAM dengan baik.



Gambar 5.2 Struktur Antarmolekul Kompleks FAK dengan YAM dan Kuersetin

Keterangan: Struktur yang berwarna coklat adalah makromolekul FAK, struktur yang berwarna biru adalah ligan YAM, dan struktur yang berwarna hijau adalah ligan kuersetin.

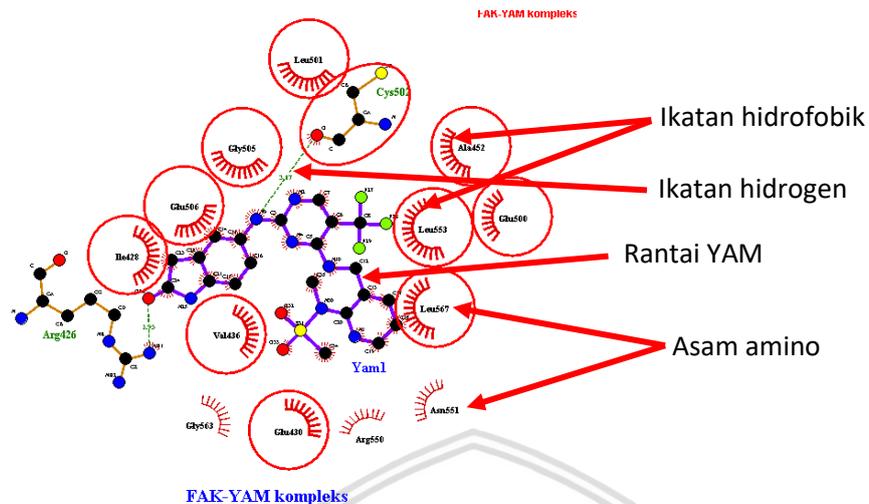
Tabel 5.2 Nilai *Binding Affinity* FAK dengan Ligan Ligan yang Berikatan dengan

Makromolekul FAK	<i>Binding Affinity</i> (kkal/ mol)
YAM (obat kontrol)	-10.9
Kuersetin	-8.9

Keterangan: Nilai yang ada pada tabel diperoleh dengan cara melakukan *docking* melalui aplikasi PyRx 0.9. Didapatkan nilai *binding affinity* antara FAK dan YAM sebesar -10.9 kkal/mol dan juga nilai *binding affinity* antara FAK dan kuersetin sebesar -8.9 kkal/mol.

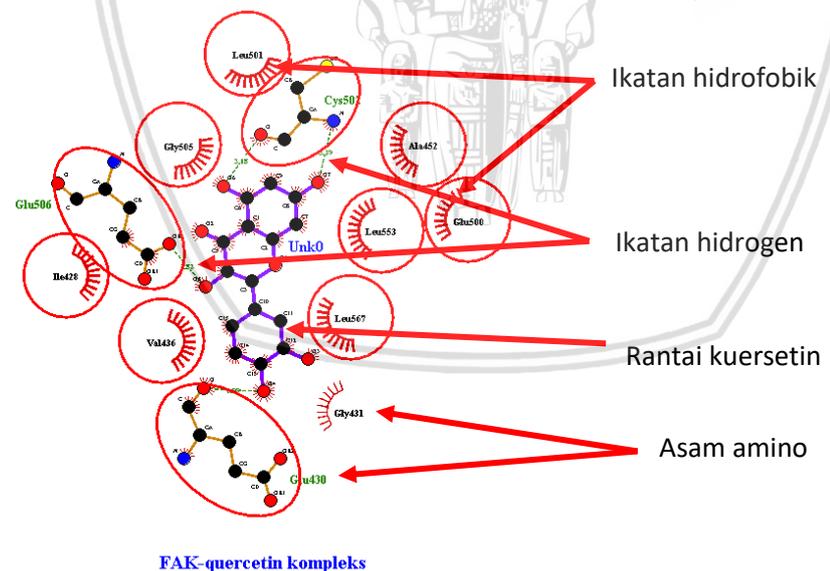
5.2 Hasil Visualisasi *Molecular Docking*

Setelah selesai uji *in silico* (*molecular docking*), ikatan antarmolekul antara FAK dengan kuersetin dan FAK dengan YAM 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 5.3 Visualisasi Ikatan Hidrogen, Hidrofobik, dan Asam Amino Antara FAK dan YAM

Keterangan: Rantai berwarna ungu ditengah adalah rantai YAM. Sedangkan yang disekitarnya merupakan bagian dari reseptor FAK. Ikatan yang ditunjukkan dengan garis putus-putus berwarna hijau merupakan ikatan hidrogen. Garis-garis merah setengah lingkaran menunjukkan adanya ikatan hidrofobik. Sedangkan lingkaran merah yang mengelilingi asam amino merupakan ikatan dengan asam amino yang sama antara FAK dengan kuersetin. Kompleks ikatan antara FAK-YAM memiliki 15 asam amino yaitu Arg426, Arg550, Asn551, Ala452, Ile428, Cys502, Glu430, Glu500, Glu506, Gly563, Gly505, Leu553, Leu567, Leu501, dan Val436.



Gambar 5.4 Visualisasi Ikatan Hidrogen, Hidrofobik, dan Asam Amino antara FAK dan Kuersetin.

Keterangan: Rantai berwarna ungu ditengah adalah rantai kuersetin. Sedangkan yang disekitarnya merupakan bagian dari reseptor FAK. Ikatan yang ditunjukkan dengan garis putus-putus berwarna hijau merupakan ikatan hidrogen. Garis-garis merah setengah lingkaran menunjukkan adanya ikatan hidrofobik. Sedangkan lingkaran merah yang mengelilingi asam amino merupakan ikatan dengan asam amino yang sama antara FAK dengan obat kontrol. Kompleks ikatan antara FAK-kuersetin memiliki 12 ikatan asam amino yaitu Glu506, Glu500, Glu430, Gly505, Gly431, Leu567, Leu553, Leu501, Ile428, Val436, Ala452, Cys502.

Tabel 5.3 Ikatan Hidrogen dan Hidrofobik Antara FAK dengan Ligan dan Asam Amino

LIGAN	Interaksi
YAM	Ikatan hidrogen: Cys502 , Arg426 Ikatan hidrofobik: Arg550, Asn551, Ala452 , Ile428 , Glu430 , Glu500 , Glu506 , Gly563, Gly505 , Leu553 , Leu567 , Leu501 , dan Val436 .
Kuersetin	Ikatan hidrogen: Cys502 , Glu430 , Glu506 Ikatan hidrofobik: Glu500 , Gly505 , Gly431, Leu567 , Leu553 , Leu501 , Ile428 , Val436 , dan Ala452 .

Keterangan: Ikatan yang terbentuk dari kompleks antarmolekul FAK-YAM yaitu 15 ikatan asam amino yang membentuk 2 ikatan hidrogen dan 13 ikatan hidrofobik. Sedangkan ikatan yang terbentuk dari kompleks antarmolekul FAK-kuersetin yaitu 12 ikatan asam amino yang membentuk 3 ikatan hidrogen dan 9 ikatan hidrofobik.

Pada kompleks ikatan antara FAK dengan obat kontrol YAM didapatkan 15 asam amino yang membentuk 2 ikatan hidrogen yaitu Cys502 dan Arg426, serta membentuk 13 ikatan hidrofobik yaitu Arg550, Asn551, Ala452, Ile428, Glu430, Glu500, Glu506, Gly563, Gly505, Leu553, Leu567, Leu501, dan Val436. Sedangkan pada kompleks ikatan antara FAK dengan kuersetin didapatkan 12 asam amino yang membentuk 3 ikatan hidrogen yaitu Cys502, Glu430, dan Glu506, serta membentuk 9 ikatan hidrofobik yaitu Glu500, Gly505, Gly431, Leu567, Leu553, Leu501, Ile428, Val436, dan Ala452. Didapatkan adanya 11 ikatan asam amino yang sama pada kompleks ikatan antarmolekul FAK-YAM dan FAK-kuersetin, yaitu Cys502, Ala452, Val436, Ile428, Glu430, Glu500, Glu506, Leu501, Leu553, Leu567, dan Gly505.

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk melihat apakah terdapat ikatan spesifik serta *binding affinity* terhadap kompleks ikatan kuersetin dengan reseptor target *focal adhesion kinase* (FAK). Metode yang dilakukan pada penelitian ini berupa *specific molecular docking* yaitu dengan secara paksa mengikatkan sebuah ligan yang dalam hal ini adalah kuersetin ketempat sisi aktif dari reseptor target yang sebelumnya sudah berikatan dengan ligan/obat kontrol. Diharapkan ligan tersebut dapat menempel pada sisi aktif yang sama dengan sisi aktif yang telah ditempati ligan/obat kontrol agar dapat bekerja dengan mekanisme yang sama dan juga menghasilkan efek yang sama dengan ligan/obat kontrol terhadap kanker serviks. Dalam penelitian ini ligan yang digunakan adalah kuersetin, sedangkan makromolekulnya adalah FAK, serta sebagai pembandingnya digunakan ligan/obat kontrol yaitu YAM.

6.1 Ikatan 5-FU dengan *Thymidylate Synthase*

5-FU merupakan salah satu obat kemoterapi yang sering dipakai untuk pasien kanker serviks. 5-FU sudah terbukti efektif menghambat sel kanker serviks dengan mekanisme kerjanya. 5-FU baru dapat memberikan efek jika dikonversikan terlebih dahulu menjadi FdUMP, FdUTP, dan FUTP. Bentuk 5-FU yang sudah menjadi FdUMP dapat menghambat enzim *thymidylate synthase* yang diperlukan untuk replikasi DNA dan proliferasi sel (Thomas *et al.*, 2016; Longley *et al.*, 2003).

Hasil *docking* FdUMP dengan *thymidylate synthase* memiliki nilai *binding affinity* sebesar $-8,0$ kkal/mol, sedangkan *docking* ligan kontrol UMP dengan

thymidylate synthase memiliki nilai *binding affinity* sebesar -7,6 kkal/mol. Suatu ikatan dapat dikatakan kuat bila nilai *binding affinity* <-7,3 kkal/mol sehingga baik FdUMP maupun UMP sama-sama memiliki ikatan kuat dengan *thymidylate synthase*. FdUMP memiliki nilai *binding affinity* lebih kuat dibanding dengan UMP sehingga FdUMP lebih berpotensi untuk berikatan dengan sisi aktif *thymidylate synthase* yang bertindak sebagai kompetitif inhibitor sehingga potensinya dapat dikatakan cukup baik dalam menghambat kerja enzim *thymidylate synthase*.

6.2 Ikatan Kuersetin dengan FAK

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 serviks. Sebagai obat antikanker, kuersetin berkerja sebagai inhibitor dari FAK (Chakerzahi *et al.*, 2015). *Focal Adhesion Kinase* (FAK) atau PTK2 adalah non-reseptor tirosin kinase sitoplasmik yang terlibat dalam perkembangan dan progresifitas sel kanker dan metastase sel kanker (Pei *et al.*, 2018). Hambatan dari FAK ini memberikan banyak efek pada kanker serviks diantaranya dengan menghambat proliferasi, migrasi, angiogenesis, dan metastasis sel kanker serviks (Mousson *et al.*, 2018). Obat kontrol yang digunakan dalam penelitian ini adalah YAM. YAM atau yang memiliki nama lain PF-562271 merupakan sebuah obat yang ampuh dan selektif sebagai inhibitor dari FAK. YAM sudah banyak terbukti efektif sebagai obat antikanker pada sebagian jenis kanker.

Dari penelitian yang dilakukan, didapatkan bahwa kuersetin dapat menempel pada FAK di sisi aktif yang sama dengan obat kontrol YAM dengan nilai *binding affinity*

-8.9 kkal/mol, sedangkan nilai *binding affinity* dari kompleks ikatan obat kontrol YAM dengan FAK sebesar -10.9 kkal/mol. Sebuah ikatan dinyatakan kuat apabila nilai dari *binding affinity* kompleks ikatan tersebut adalah <-7.3 kkal/mol. Berdasarkan alasan di atas dapat disimpulkan bahwa nilai *binding affinity* kompleks ikatan baik antara FAK dengan kuersetin maupun FAK dengan YAM sebagai obat kontrol sama-sama dibawah -7.3 kkal/mol sehingga kuersetin dan YAM dapat sangat kuat berikatan dengan sisi aktif FAK. Meskipun nilai *binding affinity* kuersetin lebih lemah dibandingkan YAM, kuersetin tetap dapat sangat baik berikatan dengan FAK dan menimbulkan efek antikanker karena nilai *binding affinity* -8.9 kkal/mol.

6.3 Interaksi Ikatan Kuersetin dengan FAK

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 hasil docking yang telah divisualisasikan didapatkan bahwa kompleks ikatan antara FAK dengan kuersetin memiliki 12 asam amino yang membentuk 3 ikatan hidrogen yaitu Cys502, Glu430, dan Glu506, serta membentuk 9 ikatan hidrofobik yaitu Glu500, Gly505, Gly431, Leu567, Leu553, Leu501, Ile428, Val436, dan Ala452, sedangkan untuk kompleks ikatan FAK dengan obat kontrol YAM memiliki 15 asam amino yang membentuk 2 ikatan hidrogen yaitu Cys502 dan Arg426, serta membentuk 13 ikatan hidrofobik yaitu Arg550, Asn551, Ala452, Ile428, Glu430, Glu500, Glu506, Gly563, Gly505, Leu553, Leu567, Leu501, dan Val436. Ikatan asam amino yang dimiliki oleh kompleks ikatan FAK-YAM lebih banyak dari jumlah ikatan asam amino yang dimiliki oleh kompleks

ikatan FAK-kuersetin, sehingga nilai *binding affinity* kompleks ikatan FAK-YAM lebih kuat. Namun kompleks ikatan FAK-kuersetin memiliki 11 ikatan asam amino yang sama dengan kompleks ikatan FAK-YAM, yaitu Cys502, Ala452, Val436, Ile428, Glu430, Glu500, Glu506, Leu501, Leu553, Leu567, dan Gly505, sehingga kuersetin berpotensi menghambat FAK pada sisi aktif obat kontrol YAM.

Mekanisme kerja antara 5-FU dan kuersetin berbeda dalam menghambat mekanisme kanker serviks. Oleh karena perbedaan mekanisme kerja inilah yang kuersetin berpotensi sebagai agen terapi kombinasi 5-FU untuk pengobatan kanker serviks. Dengan terapi kombinasi diharapkan efek samping obat menurun, resistensi obat menurun, serta efektifitas dari pengobatan kanker serviks meningkat.

6.4 Keterbatasan Penelitian

Keterbatasan penelitian ini adalah tidak dilakukan simulasi pengondisian struktur kompleks FAK-kuersetin ke dalam suatu lingkungan yang dikondisikan menyerupai lingkungan tubuh manusia selama kurang lebih 1 bulan yaitu dengan pH 7-7,4 serta suhu tubuh 36,5-37,5 °C untuk mengetahui apakah ikatan FAK-kuersetin akan tetap stabil atau tidak menggunakan *software* YASARA. Hal ini dikarenakan keterbatasan waktu dan fasilitas yang dimiliki.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa kuersetin berpotensi sebagai agen terapi kombinasi 5-FU dikarenakan kuersetin memiliki mekanisme kerja yang berbeda dari 5-FU dalam menghambat kanker serviks. Hal ini dapat dilihat melalui:

1. 5-FU (FdUMP) memiliki ikatan yang kuat dengan *thymidylate synthase* dan juga berpotensi kuat menghambat *thymidylate synthase* dikarenakan nilai *binding affinity*-nya lebih kuat daripada ligan kontrol UMP, yaitu sebesar -8.0 kkal/mol. Sedangkan nilai *binding affinity* UMP dengan *thymidylate synthase* sebesar -7.6 kkal/mol.
2. Kuersetin dapat berikatan dengan FAK dan memiliki ikatan yang kuat dengan nilai *binding affinity* -8.9 kkal/mol.

7.2 Saran

Adapun saran yang dapat peneliti berikan dari penelitian ini yaitu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui dinamika molekul dari kompleks FAK-kuersetin dengan mengondisikannya sesuai dengan kondisi yang mirip lingkungan tubuh manusia dengan *software* YASARA.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggraini, F.D., 2015. Faktor Yang Mempengaruhi Implementasi Program Deteksi Dini Kanker Serviks Melalui Pemeriksaan IVA (Inspeksi Visual Asam Asetat) di Puskesmas Wilayah Kota Surabaya. *Jurnal Ilmiah Kesehatan*, 8(1), pp. 29-40.
- Astuti, H., 2017. Gambaran Pengetahuan Wanita Usia Subur Tentang Deteksi Dini Kanker Serviks dengan Metode Inspeksi Visual Dengan Asam Asetat (IVA) di Poli Kebidanan RSUD Puri Husada Tembilahan Tahun 2015. *Menara Ilmu*, 11(1), pp. 131-135.
- Backer, C.A., dan Bakhuizen van den Brink, R.C., 1965. *Flora of Java (Spermatophytes Only) Vol. 2*. Netherland: Groningen.
- Bahrami, A., Hasanzadeh, M., Hassanian, S.M., ShahidSales, S., Ghayour-Mobarhan, M., Ferns, G.A., dan Avan, A., 2017. The Potential Value of the PI3K/Akt/mTOR Signaling Pathway for Assessing Prognosis in Cervical Cancer and as a Target for Therapy. *Journal of Cellular Biochemistry*, 118(12), pp.4163–4169.
- Brimer, N., Wade, R., dan Pol, S. V., 2014. Interactions Between E6, FAK, and GIT1 at Paxillin LD4 Are Necessary for Transformation by Bovine Papillomavirus 1 E6. *Journal of Virology*, 88(17).
- Brito, A.F., Ribeiro, M., Abrantes, A.M., Pires, A.S., Teixo, R.J., Tralhao, J.G., dan Botelho, M.F., 2015. Quercetin in Cancer Treatment, Alone or in Combination with Conventional Therapeutics. *Current Medicinal Chemistry*, 22(26).
- Cao, W., Zheng, W., dan Chen, T., 2015. Ruthenium Polypyridyl Complex Inhibits Growth and Metastasis of Breast Cancer Cells by Suppressing FAK Signaling With Enhancement of TRAIL-induced Apoptosis. *Scientific reports*, 5, 9157.
- 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 RSUD & Holistik Sejahtera Bhakti Salatiga*. Universitas Islam Negeri Walisongo.
- Crosbie, E.J., Einstein, M.H, Franceschi, S., dan Kitchener, H.C., 2013. Human Papilloma Virus and Cervical Cancer. *The Lancet*, 382(9895), pp. 889-899.
- 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>>.
- Dallakyan, S. dan Olson, A., J., 2015. Small-molecule library screening by docking with PyRx. *Methods in Molecular Biology*.
- 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.
- Depkes RI, 2009.
- Depkes RI, 2016
- Ekasari, Y., 2015. *Diagnosis Kanker Serviks Menggunakan Model Recurrent Neural Network (RNN) Berbasis Graphical User Interface (GUI)*. Universitas Negeri Yogyakarta.
- Endharti, A.T., Sulastri, E., Umanailo, R., Nurseta, T. dan Handono, K., 2018. Mango Mistletoe *Dendrophthoe pentandra* Leaf Extract Acts Synergistically With 5-Fluorouracil to Induce Apoptosis and Increase p21 Expression in Human Cervical Adenocarcinoma HeLa Cells by Reducing Survivin Expression. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, [online] 8(7), pp.10–15. Tersedia pada: <http://www.japsonline.com/abstract.php?article_id=2668>.
- Endharti, A.T., Wulandari, A., Listyana, A., Norahmawati, E., dan Permana, S., 2016. *Dendrophthoe pentandra* (L.) Miq Extract Effectively Inhibits Inflammation, Proliferation and Induces p53 Expression on Colitis-associated Colon Cancer. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1), p. 374.
- Fang, J., Zhang, H. and Jin, S., 2014. Epigenetics and cervical cancer: From pathogenesis to therapy. *Tumor Biology*, 35(6), pp.5083–5093.
- Fitrilia, T., Bintang, M., dan Safithri, M., 2015. *Ekstrak Daun Benalu Cengkeh (Dendrophthoe Pentandra (L.) Miq) Sebagai Agen Antioksidan Dan Antidiabetes Secara In Vitro*. Institut Pertanian Bogor.
- Funkhouser, T., 2007. *Protein-Ligand Docking Methods*. New Jersey: Princeton University.
- Hatta, G.P., 2017. *Perbandingan Akurasi Diagnostik IVA pada Primipara dan Multipara Terhadap Diagnostik Papsmear Sebagai Gold Standar*. Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- Jean, C., Chen, X.L., Nam, J.O., Tancioni, I., Uryu, S., Lawson, C., Ward, K.K., Walsh, C.T., Miller, N.L.G., Ghassemian, M., Turowski, P., Dejana, E., Weis, S., Cheresch, D.A., dan Schlaepfer, D.D., 2014. Inhibition of Endothelial FAK

- Activity Prevents Tumor Metastasis by Enhancing Barrier Function. *Journal of Cell Biology*, 204(2), pp. 247–263.
- Kemenkes, 2015.
- Komalasari, T., 2017. *Uji Aktifitas Fraksi Kloroform Herba Bandotan (Ageratum conyzoides L.) dan Fluorourasil Sebagai Ko-Kemoterapi pada Sel Kanker Serviks HeLa Secara In Vitro dan In Silico*. Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.
- Kurniasih, N., Kusmiyati, M., Nurhasanah, Sari, R.P., dan Wafdan, R., 2015. Potensi Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn), Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten) Steenis), dan Daun Benalu Mangga (*Dendrophthoe pentandra*) Sebagai Antioksidan Pencegah Kanker. *Jurnal Istek*, [online] 9(1), pp.162–184. Tersedia pada: <<http://www.journal.uinsgd.ac.id/index.php/istek/article/viewFile/182/197>>.
- Lakhanpal, P., dan Rai, D. K., 2007. Quercetin: A Versatile Flavonoid. *Internet Journal of Medical Update*, 2(2), pp. 20-35.
- Laras, L., 2009. Analisa Faktor Pendidikan pada Wanita Peserta Program Penapisan Kanker Leher Rahim dengan Pendekatan “See and Treat”: Untuk Deteksi Lesi Prakanker dan Pengobatan dengan Terapi Beku, [online] pp.6–28. Tersedia pada: <<http://www.lontar.ui.ac.id/file?file=digital/122569-S09011fk-Analisa faktor-Literatur.pdf>>.
- Lasut, E., Rarung, M., dan Suparman, E., 2015. Karakteristik Penderita Kanker Serviks di BLU RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou. *Jurnal e-Clinic*, 3(1).
- Lim, S.T.S., 2013. Nuclear FAK: A New Mode of Gene Regulation from Cellular Adhesions. *Molecules and Cells*, 36(1), pp.1–6.
- Longley, D.B., Harkin, D.P., dan Johnston, P.G., 2003. 5-Fluorouracil: Mechanisms of Action and Clinical Strategies. *Nature Reviews Cancer*, 3(5), pp.330–338.
- Lucientes, M.T.G., 2004. *Protein Docking and Interactions Modelling*.
- Lumowa, M., Mandang, J., dan Lumy, F., 2015. Pengaruh Promosi Kesehatan Tentang Kanker Serviks Terhadap Peningkatan Pengetahuan Ibu. *Jurnal Ilmiah Bidan*, [online] 3(1). Tersedia pada: <<https://media.neliti.com/media/publications/91776-ID-pengaruh-promosi-kesehatan-tentang-kanke.pdf>>.
- McCubrey, J.A., Steelman, L.S., Bertrand, F.E., Davis, N.M., Sokolosky, M., Abrams, S.L., Montalto, G., D'Assoro, A.B., Libra, M., Nicoletti, F., Maestro, R., Basecke,

- J., Rakus, D., Gizak, A., Demidenko, Z.N., Cocco, L., Martelli, A.M., Cervello, M., 2014. GSK-3 as Potential Target for Therapeutic Intervention in Cancer. *Oncotarget*, 5(10), pp. 2881-911.
- Miura, K., Kinouchi, M., Ishida, K., Fujibuchi, W., Naitoh, T., Ogawa, H., Ando, T., Yazaki, N., Watanabe, K., Haneda, S., Shibata, C., dan Sasaki, I., 2010. 5-FU Metabolism in Cancer and Orally-administrable 5-FU Drugs. *Cancers*, 2(3), pp. 1717-1730.
- Mokhtari, R.B., Homayouni, T.S., Baluch, N., Morgatskaya, E., Kumar, S., Das, B. and Yeger, H., 2015. Combination Therapy in Combating Cancer. *Oncotarget*, [online] 8(23), pp.38022–38043. Tersedia pada: <<http://www.oncotarget.com/abstract/16723>>.
- Mousson, A., Sick, E., Carl, P., Dujardin, D., De Mey, J., dan Rondé, P., 2018. Targeting Focal Adhesion Kinase Using Inhibitors of Protein-Protein Interactions. *Cancers*, 10(9), pp.1–29.
- Muhayanah, M., Armini, N.K.A., dan Nastiti, A.A., 2016. Kejadian Diarrhea pada Pasien Kanker Serviks Setelah Penatalaksanaan Kemoterapi. *Jurnal Ners*, 11(1), pp. 106-111.
- Novel, S.S., Nuswantara, S., dan Safitri, R., 2010. *Kanker Serviks dan Infeksi Human Papilloma Virus (HPV)*. Jakarta: Javamedia Network.
- Nurfaat, D.L., Indriyati, W., Farmakologi, L., Farmasi, F. and Padjadjaran, U., 2016. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Benalu Mangga (*Dendrophthoe petandra*) Terhadap Mencit Swiss Webster. *IJPST*, 3(2).
- 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.
- Pasapera, A.M., Schneider, I.C., Rericha, E., Schlaepfer, D.D., Waterman, C.M., 2010. Myosin II Activity Regulates Vinculin Recruitment to Focal Adhesions Through FAK-mediated Paxillin Phosphorylation. *J Cell Biol*, 188(6), pp. 877-890.
- Pei, G., Lan, Y., Lu, W., Ji, L., dan Hua, Z. C., 2018. The Function of FAK/CCDC80/E-cadherin pathway in the Regulation of B16F10 Cell Migration. *Oncology Letters*, 16(4), pp. 4761-4767.
- Perunovic, B. dan Sunassee, A., 2018. Squamous Cell Carcinoma. *Pathology Outlines*, [online]. Terdapat pada: <<http://www.pathologyoutlines.com/topic/cervixSCC>>.

- Pinto, A.C., Moreira, J.N. and Simões, S., 2011. Combination Chemotherapy in Cancer : Principles, Evaluation and Drug Delivery Strategies. *Current cancer treatment - Novel beyond conventional approaches*, pp.693–714.
- Plewczynski, D., Philips, A., Grotthuss, 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>>.
- Pubchem, 2014.
- Putri, Y.I., 2017. *Ekstraksi Kuersetin dari Kulit Terong Belanda (Solanum betaceum Cav.) Menggunakan Pelarut Etanol*. Universitas Sumatera Utara.
- Rasjidi, I., 2009. Epidemiologi Kanker Serviks. *Indonesian Journal of Cancer*, 3(3).
- 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>>.
- Setiawati, D., 2014. Human Papilloma Virus Dan Kanker Serviks. *Public Health Science*, pp.450–459.
- Shimura, T., Noma, N., Oikawa, T., Ochiai, Y., Kakuda, S., Kuwahara, Y., dan Fukumoto, M., 2012. Activation of the AKT/cyclin D1/Cdk4 Survival Signaling Pathway in Radioresistant Cancer Stem Cells. *Oncogenesis*, 1(6), e12–e12.
- Sulzmaier, F.J., Jean, C., & Schlaepfer, D. D., 2014. FAK in Cancer: Mechanistic Findings and Clinical Applications. *Nature Reviews Cancer*, 14(9), pp. 598-610.
- Sunaryati, S.S., 2011. *14 Penyakit Paling Sering Menyerang dan Sangat Mematikan*. Yogyakarta: FlashBooks.
- Thomas, S.A., Grami, Z., Mehta, S., Patel, K., North, W., dan Hospital, F., 2016. Adverse Effects of 5-fluorouracil: Focus on Rare Side Effects. *Cancer Cell & Microenvironment*, [online] pp.3–6. Tersedia pada: <<http://www.smartscitech.com/index.php/CCM/article/view/1266>>.
- Tomaić, V., 2016. Functional Roles of E6 and E7 Oncoproteins in HPV-induced Malignancies at Diverse Anatomical Sites. *Cancers*, 8(10).
- Triyanti, 2016. *Pemodelan Fuzzy dengan Metode Dekomposisi Nilai Singular dan Aplikasinya Untuk Diagnosis Kanker Serviks*. Universitas Negeri Yogyakarta.

Tungteakkhun, S.S. and Duerksen-Hughes, P.J., 2008. Cellular Binding Partners of the Human Papillomavirus E6 Protein. *Archives of Virology*, 153(3), pp.397–408.

WHO, 2013

Wright, A.A., Howitt, B.E., Myers, A.P., Dahlberg, S.E., Palesscandolo, E., Van Hummelen, P., Macconail, L.E., Shoni, M., Wagle, N., Jones, R.T., Quick, C.M., Laury, A., Katz, I.T., Hahn, W.C., Matulonis, U.A., dan Hirsch, M.S., 2013. Oncogenic Mutations in Cervical Cancer: Genomic Differences Between Adenocarcinomas and Squamous Cell Carcinomas of the Cervix. *Cancer*, 119(21), pp. 3776–3783.

Yeturu K. dan Chandra N., 2008. PocketMatch: A New Algorithm to Compare Binding Sites in Protein Structures. *BMC Bioinformatics*, 9, pp. 543.

Yuliandari, A., 2017. *Metabolite Profiling Daun Benalu Mangga (Dendrophthoe pentandra (L.) Miq.) Menggunakan UPLC-MS dengan Analisis Data Multivarian PCA*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Zaloudek, C., 2010. *Adenocarcinoma of Cervix*. University of California.

