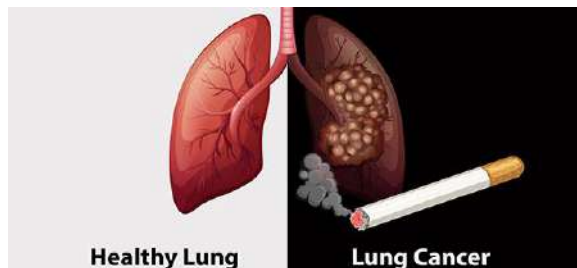


Bab II Tinjauan Pustaka

II.1 Kanker Paru

Kanker merupakan pembelahan sel yang tidak terkendali yang dapat menyebar ke bagian tubuh yang lainnya. Kanker muncul dari satu sel tunggal dan biasanya hasil dari mutasi yang disebabkan oleh kanker yang menghasilkan agen yang disebut sebagai karsinogen. Agen ini menyebabkan mutasi genetik atau modifikasi yang sistem perbaikan DNA sel sehingga tidak mampu untuk memperbaiki diri. Kanker termasuk penyakit yang tidak menular. Penyakit ini timbul akibat kondisi fisik yang tidak normal dan pola hidup yang tidak sehat. Meskipun demikian, penyakit ini bisa diturunkan oleh orang tua kepada anaknya. Risiko terkena kanker sangat besar jika salah satu anggota keluarga terkena kanker (Kumar dan Pooja, 2015).

Kanker paru merupakan tumor padat yang berasal dari sel-sel epitel bronkial. Kanker paru dibedakan menjadi kanker paru sel non-kecil (NSCLC) dan paru sel kecil kanker (SCLC) karena kanker tersebut memiliki riwayat dan respon terapi yang berbeda (Dipiro, 2015).



Gambar II.1 Paru Normal dengan Kanker Paru (ACS, 2016).

Penyebab utama dari kanker paru adalah merokok. Penyebab lain dari kanker paru yang pernah dilaporkan adalah paparan zat karsinogen seperti polusi udara, kekurangan nutrisi dan faktor genetik. Sebagian besar kanker paru muncul dari sel epitel saluran udara dan diklasifikasikan sebagai karsinoma. Berikut patofisiologi dari kanker paru:

1. Karsinoma paru muncul dari sel epitel pluripoten setelah paparan terhadap karsinogen (terutama asap rokok), yang dapat menyebabkan inflamasi kronik dan akhirnya mengarah pada perubahan genetik dan sitologik yang berkembang pada karsinoma.
2. Aktivasi protoonkogen, inhibisi atau mutasi gen penekan tumor, dan produksi faktor pertumbuhan otokrin juga berkontribusi pada proliferasi sel dan transformasi malignan.
3. Merokok diperkirakan bertanggung jawab sekitar 85% kasus kanker paru. Paparan di tempat kerja dan lingkungan asbes, klorometil eter, logam berat, hidrokarbon aromatik polisiklik, dan radon juga terkait.
4. Tipe sel utama adalah karsinoma sel skuamosa (25% dari semua kanker paru), adenokarsinoma (40%), karsinoma sel besar (15%), dan karsinoma paru sel kecil atau *Small Cell Lung Carcinoma* (SCLC 20%).
5. Untuk menentukan strategi penatalaksanaan dan diagnosis, adenokarsinoma, karsinoma sel skuamosa, dan karsinoma sel besar sering dikelompokkan bersama dan dirujuk sebagai *Non Small Cell Lung Cancer* (NSCLC) (Kusnandar *et al*, 2011).

II.2 Klasifikasi Kanker Paru

1. *Small Cell Lung Cancer (SCLC)*

SCLC adalah tumor yang sangat agresif dan tumbuh dengan cepat dengan sekitar 60%-70% pada pasien (Dipiro, 2015).

2. *Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC)*

NSCLC mencakup sekitar 85% dari semua kanker paru. Biasanya memiliki tingkat pertumbuhan dan penggandaan yang lebih lambat daripada SCLC (Dipiro, 2015).

NSCLC dibagi menjadi 3 kategori berdasarkan klasifikasinya, yaitu:

1. Adenokarsinoma: Mencakup 40% dari kanker paru dan lebih banyak pasien wanita. Pertumbuhan adenokarsinoma biasanya lambat dan perlu waktu 15 tahun untuk tumbuh dengan waktu untuk menggandakan diri lebih dari 200 hari. Adenokarsinoma muncul dari sel mukus didalam epitel pada bronkus.
2. Karsinoma sel skuamosa: lebih jarang ditemukan dan mencakup sekiranya 25% dari kanker paru. Karsinoma ini lebih agresif dari pada adenokarsinoma dan membutuhkan 8 tahun untuk berkembang. Biasanya karsinoma sel skuamosa dapat menyebabkan obstruksi pada bronkus yang menyebabkan infeksi.
3. Karsinoma sel besar: karsinoma yang paling jarang ditemukan, mencakup 10% dari kanker paru. Karsinoma ini metastase lebih cepat dan memiliki prognosis yang lebih buruk (Abdi, 2014).

II.3 Pengobatan Kanker Paru

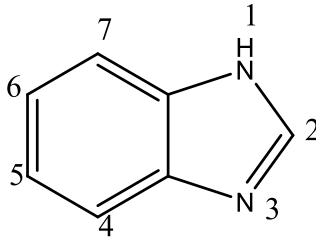
Pengobatan kanker paru adalah *combined modality therapy* (multi-modaliti terapi). Kenyataannya pada saat pemilihan terapi, sering bukan hanya diharapkan pada pada jenis histologis, derajat dan tampilan penderita saja, tetapi juga kondisi non-medis seperti fasilitas yang dimiliki rumah sakit dan ekonomi penderita juga merupakan faktor yang amat menentukan. Pengobatan yang bisa dilakukan adalah:

1. Pembedahan, pada kanker paru bertujuan untuk mengangkat sel tumor secara total dan getah bening disekitarnya. Biasanya dilakukan pada sel kanker paru yang tumbuh pada paru yaitu stadium 1, kecuali pada SCLC. Pembedahan dapat dilakukan pada kanker stadium lanjut, tetapi lebih bersifat paliatif. Pembedahan paliatif adalah pembedahan mengambil massa tumor agar radioterapi atau pengobatan sinar dan kemoterapi lebih efektif.
2. Radioterapi, digunakan pada pengobatan pada kanker paru yang tumbuh terbatas pada paru. Radioterapi dapat dilakukan pada kanker NSCLC stadium awal atau pada kondisi tertentu tidak dapat dilakukan pembedahan, misalnya umur pasien tidak mendukung untuk dilakukan pembedahan atau tumor terletak di bronkus utama sehingga teknik pembedahan sulit dilakukan. Terapi radiasi menggunakan sinar X untuk membunuh sel kanker. Terapi ini dapat dikombinasikan dengan pembedahan atau kemoterapi.

3. Kemoterapi, terapi yang digunakan pada kanker stadium lanjut yang telah menjalar ke organ lain misalnya hati. Kemoterapi dapat digunakan untuk memperkecil sel kanker, memperlambat pertumbuhan, dan mencegah penyebaran sel kanker ke organ lain (*American Society of Clinical Oncology*, 2010).

II.4 Senyawa benzimidazol sebagai antikanker

Benzimidazol adalah senyawa organik aromatik heterosiklik yang terbentuk dari cincin benzen dan cincin imidazol. Benzen merupakan salah satu komponen dalam minyak bumi yang salah satu bahan petrokimia yang paling dasar serta pelarut yang penting dalam dunia industri dan imidazol tergolong sebagai alkaloid. senyawa benzimidazol mempunyai struktur cincin yang mengandung atom selain karbon, seperti belerang, oksigen, ataupun nitrogen yang merupakan bagian dari cincin tersebut dan turunannya yang menarik secara meluas karena aktivitas biologis dan aplikasi klinis yang beragam. Benzimidazol adalah senyawa yang sangat efektif terkait dengan aktivitas penghambatan dan rasio selektivitas yang menguntungkan. Benzimidazol telah dianggap sebagai golongan senyawa heterosiklik yang menjanjikan karena menunjukkan kegiatan biologis aktivitas antikanker (Chen *et al*, 2010).

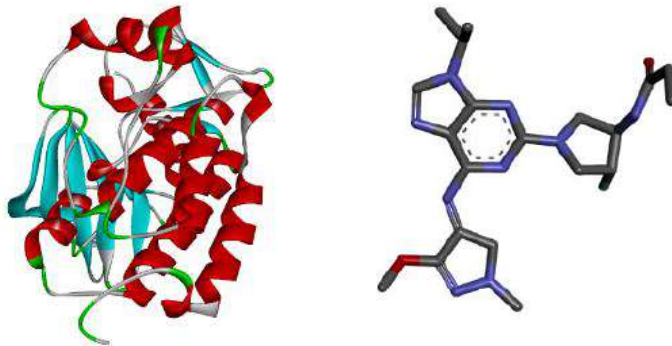


Gambar II.2 Struktur Benzimidazol (Singla *et al*, 2014).

Literatur mengungkapkan bahwa substitusi di 1, 2, 5 dan posisi 6 dari bagian benzimidazol juga penting dari sudut pandang kimia medis, untuk dipamerkan berbagai kegiatan farmakologi dengan bertindak pada berbagai target antikanker (Singla *et al*, 2014).

II.5 Target Terapi Epidermal Growth Factor Reseptor (EGFR)

Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) adalah pendorong utama pada kanker paru *Non Small Cell Lung Cancer* (NSCLC). EGFR merupakan protein trans membran dan merupakan golongan dari reseptor tirosin kinase. reseptor dengan aktivitas enzim, yang mengaktifkan berbagai respon biologis. Jalur *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR) memegang peranan penting pada kanker paru kategori NSCLC yang berkontribusi pada beberapa proses utama perkembangan dan progresivitas tumor, antara lain proliferasi sel, regulasi apoptosis sel yang mengakibatkan pertumbuhan tumor dan metastasis (Inamura, 2010).



Gambar II.3 Reseptor dan Ligan alami (Inamura, 2010)

II.6 Hubungan kuantitatif struktur dan aktivitas

HKSA adalah korelasi matematis antara aktivitas biologis dari satu atau lebih sifat struktural fisikokimia dan molekul, yang dikenal sebagai deskriptor karena menggambarkan aktivitas atau properti yang sedang diperiksa (Dearden, 2017). Tujuan utama HKSA yaitu membuat persamaan model HKSA yang menggambarkan sifat dari rangkaian senyawa. Untuk mendapatkan model tersebut diperlukan pemilihan data set dari beberapa model molekul yang sudah diketahui nilai aktivitas biologisnya dari data ekperimental. Aktivitas biologis suatu obat diperoleh setelah terjadi interaksi senyawa dengan molekul spesifik dalam obyek biologis. Interaksi tersebut ditunjang dengan spesifisitas sifat kimia fisika senyawa yang tinggi. Aktivitas obat berhubungan dengan sifat kimia fisika obat, dan merupakan fungsi dari struktur molekul obat (Kubinyi, 1993).

HKSA merupakan bagian penting dalam merancang obat baru, untuk mendapatkan suatu obat baru dengan aktivitas yang lebih besar, selektivitas yang lebih tinggi, efek samping yang sekecil mungkin dan kenyamanan yang lebih besar (Siswandono, 2015).

II.7 Optimasi geometri

Optimasi geometri atau optimasi energi merupakan suatu langkah untuk mendapatkan struktur dengan energi minimal atau terendah dari suatu molekul. Struktur dengan energi terendah dapat diinterpretasikan sebagai sistem dengan keadaan yang stabil di alam. Optimasi geometri merupakan media komputasi yang dimaksudkan untuk mengetahui sifat fisikokimia dari suatu senyawa uji. Optimasi geometri biasanya digunakan untuk mengetahui nilai parameter elektronik. Metode komputasi *Density Functional Theory* (DFT) sering dipilih karena memodelkan sistem molekul dengan akurat dan memberikan data dalam tingkat mikroskopik yang berkorelasi signifikan dengan hasil eksperimen laboratorium (Leach, 2001).

Penentuan basis set yang digunakan juga sangat penting karena merupakan acuan kalkulasi *software* dalam menghitung besaran parameter yang diinginkan. Basis set yang digunakan adalah 6-31G. Notasi 6-31G menandakan di dalam set basis ini terdapat enam fungsi *Gaussian* yang mewakili orbital, tiga fungsi *Gaussian* untuk orbital elektron valensi bagian yang berkontraksi, dan satu untuk bagian yang berdifusi (Pamungkas, 2013).

II.8 Pemilihan sifat-sifat fisika dan kimia (Deskriptor)

Deskriptor yang sering dipilih adalah deskriptor-deskriptor dalam analisis Hansch, dalam analisis Hansch parameter-parameter diperlakukan sebagai variabel bebas (prediktor) untuk menerangkan harga aktivitas biologis. Model analisis Hansch digunakan karena dinilai lebih berkembang dibanding model Free Wilson, karena lebih sederhana, konsepnya secara langsung berhubungan dengan prinsip-prinsip kimia fisika organik yang sudah ada, penggunaan pendekatan model Hansch telah banyak menjelaskan hubungan struktur dan aktivitas suatu turunan obat (Kubinyi, 1993).

II.8.1 Model pendekatan Free-Wilson

Model Free-Wilson atau model *de novo* dikembangkan oleh Free dan Wilson. Metode ini didasarkan pada perkiraan bahwa masing-masing substituent pada struktur senyawa induk memberikan sumbangan yang tetap pada aktivitas biologis. Sumbangan ini bersifat aditif dan tidak bersifat sumbangan substituen yang lain. Model Free-Wilson mengajukan model matematik yang memperkirakan bahwa aktivitas biologis sama dengan jumlah sumbangan substituen ditambah aktivitas biologis senyawa induk.

$$\text{Log } 1/C = k_1.(X_i) + k_2 . (Y_i) + k_3 .(Z_i) + k_4 \quad (\text{II.1})$$

Notasi C menyatakan konsentrasi senyawa obat ke-i yang akan memberikan respon biologis tertentu. Untuk (X_i) , (Y_i) , dan (Z_i) masing-masing menyatakan nilai kontribusi aktivitas akibat substitusi gugus-gugus X, Y, atau Z untuk senyawa ke-i, sedangkan harga k_1 , k_2 , k_3 , dan k_4 merupakan konstanta regresi (Free-Wilson, 1964).

Kelemahan metode Free-Wilson yaitu:

1. Penggunaan model Free-Wilson akan menghasilkan model persamaan yang hanya dapat memprediksikan turunan baru dalam jumlah terbatas.
2. Tidak dapat digunakan untuk memprediksi gugus lain yang berbeda dari jenis gugus yang digunakan dalam analisis.
3. Pada kebanyakan kasus, jumlah parameter akan jauh lebih besar daripada jumlah senyawa sehingga secara statistik akan tidak signifikan (Sardjoko, 1993).

II.8.2 Model pendekatan Hansch

Metode yang paling sering digunakan adalah model yang diusulkan oleh Hansch yang menyatakan hubungan lipofilitas relatif dengan potensi biologi yang digabungkan dengan hubungan energi bebas linier (LFER) untuk model persamaan umum HKSA dalam konteks biologi (Siswandono, 2015). Prinsip utama dari analisis Hänsch adalah pemahaman prediksi hipotesis baru yang dapat dibentuk dari analisis kuantitatif, yang terbukti oleh sintesis dan pengujian analog baru. Jika nilai-nilai prediksi dekat dengan pengujian eksperimental, model dapat diterima. Konsep metode ini mengemukakan bahwa hubungan struktur kimia dengan aktivitas biologi suatu turunan senyawa dapat dinyatakan secara kuantitatif melalui parameter-parameter sifat substituent yaitu parameter hidrofobik (π), elektronik (σ) dan sterik (E_s). Model pendekatan ini disebut model hubungan energi bebas linier *Linier Free Energy Relationship* (LFER) atau pendekatan ekstra termodinamik (Kubinyi, 1993).

II.8.3 Parameter sifat fisika kimia model Hansch

Interaksi obat dengan aktivitas biologis ditentukan oleh gaya antar molekul, yaitu dengan hidrofobik, elektrostatik, dan interaksi sterik. Hubungan kuantitatif struktur aktivitas berasal dari model yang menggambarkan ketergantungan struktural aktivitas biologis baik dengan parameter fisikokimia (analisis Hänsch), maupun dengan variabel indikator pengkodean fitur struktural yang berbeda (analisis Free-Wilson) (Kubinyi, 1993).

Dalam metode HKSA dengan model pendekatan Hansch, hubungan struktur kimia dengan aktivitas biologis ($\log 1/C$) suatu turunan senyawa dapat dinyatakan secara kuantitatif melalui parameter-parameter sifat fisika kimia dari substituent yaitu parameter hidrofobik (π), elektronik (σ), dan sterik (E_s) yang terdapat pada molekul (Kubinyi, 1993).

1. Parameter hidrofobik

Hidrofobik adalah hubungan langsung ke kelarutan dalam fasa air, membran permeasi, dan untuk yang kontribusi untuk ligan mengikat pada situs reseptor. Parameter hidrofobik suatu obat dapat dinilai secara eksperimen dengan menguji sebaran distribusi (Koefisien partisi/ P) obat dalam campuran n - oktanol/air dapat diperoleh suatu persamaan:

$$P = \frac{\text{Konsentrasi obat didalam oktanol}}{\text{Konsentrasi obat didalam larutan air}} \quad (\text{II.2})$$

Variasi substituent pada senyawa penuntun hidrofobisitas dan perbedaan nilai P . Dengan memplot atau membandingkan nilai P dengan aktivitas biologis obat, maka dapat melihat adanya hubungan antar kedua sifat tersebut. Aktivitas obat ditunjukkan sebagai $1/C$, dengan C adalah konsentrasi obat yang diperlukan untuk mencapai tingkat aktifitas biologis. Parameter hidrofobik (lipofilik) yang sering digunakan dalam HKSA antara lain logaritma koefisien partisi ($\log P$), tetapan Hancsh, tetapan fragmentasi, tetapan kromatografi dan logaritma kelarutan dalam air ($\log S$) (Kubinyi, 1993).

2. Parameter elektronik

Struktur elektronik dari suatu molekul dapat memberi gambaran dari sifat molekul tersebut, mengingat elektron-elektron pada atom dalam suatu molekul berpengaruh terhadap interaksi antara obat dengan reseptor. Parameter elektronik memiliki efek suatu obat dapat melewati membran sel dan seberapa kuat efek tersebut dapat berinteraksi dengan lokasi ikat. Terdapat 3 macam sifat elektronik, yaitu:

1. Pengaruh berbagai substituent terhadap reaktifitas bagian molekul yang tidak mengalami perubahan. Penetapannya menggunakan orbital molekul.
2. Sifat elektronik yang berkaitan dengan tetapan ionisasi (pK_a) dan berhubungan dengan bentuk terionkan dan tak terionkan dari suatu senyawa pada pH tertentu. Penetapannya menggunakan persamaan Henderson hasselbach.
3. Sifat oksidasi – reduksi atau reaktifitas senyawa .penetapannya menggunakan perhitungan mekanika kuantum dari energi orbital.

Parameter elektronik yang paling sering digunakan adalah Hammett konstanta σ , nilai-nilai hidrogen, E_{total} , HOMO dan LUMO. Semua parameter ini menggambarkan pengaruh dari kelompok tertentu atau substituent pada distribusi kerapatan elektron, semua telah digunakan dalam studi QSAR (Kubinyi,1993).

3. Parameter sterik

Parameter sterik substituent dapat diukur berdasarkan sifat meruah gugus-gugus dan efek gugus pada kontak obat dengan sisi reseptor yang berdekatan. Perhitungan sifat sterik bisa dilakukan dengan metode molar refraksi, faktor sterik Taft's parameter sterik verloop dan indeks topologi. parameter sterik didefinisikan sebagai panjang substituent sepanjang sumbu substitusi untuk kerangka induk.

Tetapan sterik yang sering digunakan dalam hubungan struktur aktivitas adalah tetapan E_s Taft, tetapan E_{sc} Hancock, tetapan dimensi van der waal's, tetapan U Charton dan tetapan sterimol Verloop. Karena data tetapan sterik tersebut tidak tersedia untuk banyak tipe substituent, parameter sterik yang dihitung secara teoritis juga digunakan dalam hubungan struktur aktivitas yaitu berat molekul ($BM = Mw$), refraksi molar dan parakor (Kubinyi,1993).

II.9 Validasi HKSA

Validasi adalah suatu tindakan yang membuktikan bahwa suatu proses/metode dapat memberikan hasil yang konsisten sesuai dengan spesifikasi yang telah ditetapkan. Perhitungan analisis statistik yang paling sering digunakan dalam hubungan struktur dan aktifitas melalui parameter kimia fisika adalah regresi linier. Untuk mengetahui hubungan kualitatif antara struktur kimia dan aktivitas biologis melalui parameter kimia-fisika, dapat dilakukan perhitungan statistik dengan bantuan *software* komputer yaitu seperti SPSS. Penggunaan analisa statistik pada HKSA bertujuan untuk melihat hubungan pengaruh deskriptor terhadap aktivitas dan hubungan antara deskriptor dengan aktivitas adalah linier. Analisis regresi merupakan suatu model matematis yang dapat digunakan untuk mengetahui bentuk hubungan antara dua atau lebih *variable*. Tujuan analisis regresi adalah untuk membuat perkiraan (prediksi) nilai suatu *variable* bebas dengan *variable* terikat. Regresi linier merupakan persamaan yang melibatkan dua *variable* bebas dan terikat. Analisis statistik MLR merupakan suatu analisis statistik yang melibatkan dua atau lebih *variable* bebas (*independent*) terhadap satu *variable* terikat (*dependent*). Menurut (Siswandono, 2015) analisa suatu persamaan regresi ditentukan oleh beberapa kriteria statistik untuk memperoleh validitas persamaan yang diperoleh validitas persamaan yang diperoleh yaitu:

1. Nilai R (koefisien korelasi) menunjukkan tingkat hubungan antara dua data aktifitas biologis pengamatan percobaan dengan data hasil perhitungan berdasarkan persamaan yang diperoleh dari analisis regresi. Nilainya bervariasi antara 0 sampai 1, nilai yang tinggi menunjukkan hubungan yang baik atau dicapai 0,90.
2. Nilai R^2 menunjukkan berapa % aktivitas biologis terhadap parameter sifat fisika kimia yang digunakan, nilai yang tinggi menunjukkan hubungan yang baik atau dicapai 0,80.
3. Nilai F menunjukkan hubungan bila dibandingkan dengan tabel F. Makin besar nilai F_{hitung} terhadap nilai F_{tabel} makin besar derajat kesesuaian hubungan.
4. Nilai q^2 sebagai hasil validasi silang yang menunjukkan kinerja dan stabilitas model yang diperoleh. Persamaan dikatakan dapat diterima jika nilai $q^2 \geq 0,5$, dihitung menurut persamaan:

$$q^2 = 1 - \frac{\sum(y_i - \bar{y})^2}{\sum(y_i - \bar{y}_i)^2} \quad (\text{II.3})$$

y_i = aktivitas eksperimen senyawa ke- i

$\bar{y}$ = aktivitas eksperimen rata-rata

$\bar{y}_i$ = aktivitas prediksi validasi silang senyawa ke- i

Cara membaca skema topliss adalah mulai dari atas, kemudian cek aktivitas biologinya dan ikuti jalur pada skema yang sesuai. Jalur L digunakan apabila aktivitas biologinya jauh lebih buruk dari pada senyawa sebelumnya, Jalur E digunakan apabila aktivitas biologinya kurang lebih sama dengan senyawa yang sebelumnya dan jalur M apabila aktivitas biologinya jauh lebih baik daripada senyawa sebelumnya (Topliss, 1972).

II.11 *Molecular Docking*

Molecular docking adalah salah satu metode yang digunakan dalam *Structure Based Drug Design* (SBDD) karena kemampuannya memprediksi dengan akurat. Konformasi molekul antara ligan dengan pengikatan target yang tepat. *Molecular docking* menjadi alat penting dalam penemuan obat. Misalnya, investigasi melibatkan peristiwa molekuler yang penting, termasuk mode pengikat ligan dan intermolekul yang sesuai interaksi yang menstabilkan kompleks reseptor ligan, dapat dilakukan dengan mudah. Selanjutnya, algoritma docking molekuler mengeksekusi prediksi kuantitatif energetika yang mengikat, memberikan rangking senyawa merapat berdasarkan afinitas ikatan kompleks reseptor ligan.

Identifikasi konformasi yang mengikat mungkin memerlukan dua langkah: (i) eksplorasi ruang konformasi besar yang mewakili berbagai mode pengikatan potensial; (ii) prediksi yang akurat dari energi interaksi yang terkait dengan masing masing konformasi yang diprediksi. Program *molecular docking* melakukan tugas ini melalui proses siklis, di mana konformasi ligan dievaluasi dengan fungsi penilaian tertentu (Ferreira, 2015).

Validasi *docking* dilakukan dengan cara *re-docking* antara ligan alami dengan reseptor target. Pada proses ini yang dilihat adalah nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*). RMSD merupakan parameter yang menggambarkan seberapa besar perubahan interaksi protein-ligan pada struktur kristal sebelum dan sesudah docking. Metode *docking* dikatakan *reliable/valid* apabila nilai $RMSD \leq 2 \text{ \AA}$ yang artinya parameter *docking* yang digunakan telah valid sehingga dapat digunakan selanjutnya untuk *docking* senyawa uji (Cole *et al*, 2005).