

ANALISIS *IN SILICO*: HUBUNGAN GEN *KRAS (V-KI-RAS2 KIRSTEN RAT SARCOMA VIRAL ONCOGENE HOMOLOG)* PADA KANKER PARU DENGAN *CEMBRANOID-TYPE DITERPENE*

SKRIPSI



Oleh :

AFIFAH ENDAH DWI PURIANTI

2108260120

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
MEDAN
2025**

ANALISIS *IN SILICO*: HUBUNGAN GEN *KRAS (V-KI-RAS2 KIRSTEN RAT SARCOMA VIRAL ONCOGENE HOMOLOG)* PADA KANKER PARU DENGAN *CEMBRANOID-TYPE DITERPENE*

**Skripsi Ini Diajukan Sebagai Satu Syarat Untuk Memperoleh
Kelulusan Sarjana Kedokteran**



Oleh :

AFIFAH ENDAH DWI PURIANTI

2108260120

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
MEDAN
2025**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertanda tangan dibawah ini menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar

Nama : Afifah Endah Dwi Purianti

NPM : 2108261020

Judul Skripsi : Analisis *In Silico*: Hubungan Gen Kras (*V-Ki-Ras2 Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog*) Pada Kanker Paru Dengan *Cembranoid-Type Diterpene*

Demikianlah pernyataan ini saya perbuat, untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Medan, 12 Februari 2025



Afifah Endah Dwi Purianti

FAKULTAS KEDOKTERAN

Jalan Gedung Arca No. 53 Medan 20217 Telp. (061) 7350163 – 7333162 Ext.
20 Fax. (061) 7363488
Website : fk@umsu@ac.id



HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh:

Nama : Afifah Endah Dwi Purianti
NPM : 2108260120
Judul : ***Analisis In Silico: Hubungan Gen Kras (V-Ki-Ras2 Kirsten Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog) Pada Kanker Paru Dengan Cembranoid-Type Diterpene***

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

DEWAN PENGUJI

Pembimbing,

(Assoc. Prof. Dr.dr. Humairah Medina Liza Lubis, M.ked.(PA)..Sp.PA)

NIDN: 0115077401

Mengetahui,



Dekan FK UMSU

(dr. Siti Mashana Siregar, Sp. THT-KL(K))

NIDN: 0106098201

Ketua Program Studi
Pendidikan Dokter FK UMSU

(dr. Desi Isnawanti, M.Pd.Ked)

NIDN: 0112098605

Ditetapkan di: Medan

Tanggal: 10 Februari 2025

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya ucapkan kepada Allah Subhanahu Wata'ala karena berkat rahmat dan karunia Nya, saya dapat menjalankan proses pendidikan preklinik dan menyelesaikan skripsi ini dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran pada fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara. Shalawat beriringkan salam saya ucapkan kepada Rasulullah Muhammad Shallahu'alaihi wassalam, yang telah membawa kita dari kegelapan menuju ke zaman yang terang benderang yang disinari oleh iman dan islam.

Kemudian tidak lupa juga penulis ucapkan kepada semua yang terlibat dalam pengerjaan skripsi ini:

1. dr. Siti Masliana Siregar, Sp.THT-KL(K), selaku Dekan Fakultas kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
2. dr. Desi Isnayanti, M.Pd.Ked, selaku Ketua Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
3. dr. Hervina Sp.KK, MKM, FINS DV, FAADV selaku Dosen Pembimbing Akademik saya yang selalu konsisten menasehati, membantu, membela, dan sangat peduli kepada penulis selama menempuh Pendidikan.
4. Assoc, Prof. Dr. dr. Humairah Medina Liza Lubis, M.Ked. (PA), Sp.PA selaku Dosen Pembimbing Skripsi yang telah royal mengajari serta memberi banyak hal kepada penulis diluar proses penyusunan skripsi dan telah menyediakan waktu, tenaga, serta dukungan emosional yang sangat berarti selama penulis menempuh pendidikan dan dalam penyusunan skripsi ini, semoga Allah melipat gandakan semua kebaikan dan ketulusan yang telah diberikan kepada penulis.
5. Dr. Heppy Jelita Sari Batubara, M.K.M yang sudah berbaik hati menoleransi dan membantu ketika saya melakukan kesalahan dan kesusahan dalam menjalani kegiatan *clinical experience*.
6. Ayahanda Ir. Budi Purianto yang selalu percaya bahwa penulis bisa menjalankan semua proses pendidikan dengan sangat baik dan sempurna,

yang selalu bangga dan membanggakan penulis terlepas kekurangan dan kesalahan apapun yang penulis miliki, dan yang selalu mengusahakan kebutuhan primer dan skunder penulis sampai detik ini. Semoga diberikan kesehatan dan umur yang panjang, sehingga dapat melihat penulis menjadi dokter yang baik dan hebat.

7. Ibunda Suriyanti A.P.Keb yang selalu menyemangati, memotivasi, dan mengingatkan penulis apabila penulis terlena dalam menjalani proses pendidikan, yang selalu membuatkan bekal makan siang, yang selalu mengerti kesibukan penulis selama mempersiapkan segala macam ujian yang ada didunia perkuliahan dan yang selalu mendoakan penulis kapanpun dan dimanapun. Semoga diberikan kesehatan, umur yang panjang dan kebahagiaan, sehingga dapat melihat penulis menjadi dokter yang baik dan hebat.
8. Diri sendiri yang selalu memilih jalan yang sulit, selalu bertahan, dan berusaha semaksimal mungkin untuk sampai dititik ini.
9. Seluruh keluarga besar penulis, terutama untuk Bulek Eni Minarti S.Kom, Tante Eka Miradiana A.Md.Par, Abang Dito Arief Purianto S.P, dan Adik Muhammad Affan Zidane Purianto yang telah memberi dukungan mental serta emosional, yang selalu menghibur penulis, dan sering memberi uang tambahan kepada penulis sehingga penulis selalu memiliki uang yang berlebih.
10. Alm. Samingan (Kakek) dan Almh. Marianai (Nenek) yang tidak pernah menuntut apapun dari penulis kecuali penulis harus menjadi dokter yang bisa dibanggakan, yang selalu menjadi panutan penulis, dan menjadi sumber pertama semangat penulis untuk menyelesaikan penelitian ini. Semoga Allah mengharamkan api neraka barang sehelai rambutpun.
11. Teman dekat penulis, yaitu Ainus Shafiyah, Melani, Anriza Hazra Eilfrian Gurning, Dita Anggreani, Nur Fadilah Nasution, Kirana Arum Indra, Kori Oktariana Anwar, Nur Riska Tama, Chindy Octaviani, Pandu Dwipatmasari, Tri Sanayah Auliasyam, Afnizar Sagala, Nurhaidah Fitri Rambe, dan Cindy Amalia Daulay yang selalu bersedia untuk berdiskusi,

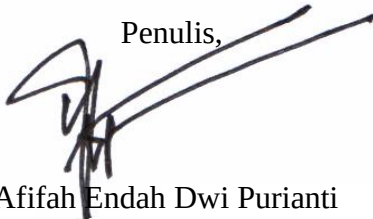
saling mengerti, dan memberi banyak warna di kehidupan penulis selama ini

12. Seluruh teman-teman kelas B angkatan 2021 yang sudah selalu mempercayai penulis sebagai sekretaris kelas selama kurang lebih tiga tahun lamanya dan sudah berjuang bersama melewati dunia preklinik demi mendapatkan gelar Sarjana Kedokteran.
13. Sheila on7, Baskara Putra (Hindia), Iwan Fals, dan James Arthur yang sudah memberi semangat kepada penulis lewat banyak karya yang memukau.
14. Semua pihak yang sudah sangat membantu penulis yang tidak dapat dituliskan satu persatu.

Terimakasih untuk segala kebaikan yang telah diberikan, semoga skripsi ini bermanfaat untuk perkembangan dunia pendidikan dan menjadi amal jariyah untuk penulis dan segala pihak yang terlibat. Penulis menyadari bahwa masih adanya kekurangan yang didapatkan dalam skripsi ini. Oleh sebab itu, penulis memohon bantuan berupa kritik dan saran yang bersifat membangun sehingga skripsi ini menjadi skripsi yang lebih baik.

Medan, 12 Februari 2025

Penulis,



Afifah Endah Dwi Purianti

**PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI UNTUK
KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademika Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, saya yang bertanda tangan dibawah ini,

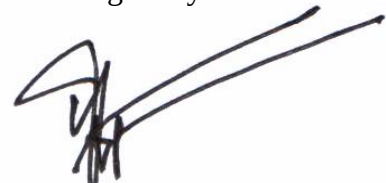
Nama : Afifah Endah Dwi Purianti
NPM : 2108260120
Fakultas : Kedokteran

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara Hak Bebas Royalti Noneksklusif atas skripsi saya yang berjudul “**ANALISIS IN SILICO: HUBUNGAN GEN KRAS (V-KI-RAS2 KIRSTEN RAT SARCOMA VIRAL ONCOGENE HOMOLOG) PADA KANKER PARU DENGAN CEMBRANOID-TYPE DITERPENE**”, beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya

Dibuat di : Medan
Pada tanggal : 12 Februari 2025

Yang menyatakan



(Afifah Endah Dwi Purianti)

ABSTRAK

Pendahuluan: *World Health Organization (WHO)* mengklasifikasikan kanker paru secara histologis menjadi dua kategori utama, yaitu *non-small lung carcinoma (NSCLC)* yang meliputi adenokarsinoma, karsinoma sel skuamosa, serta karsinoma sel besar dan *small-cell lung carcinoma (SCLC)* yang meliputi *oat-cell carcinoma* serta *combined-sclc*. Kanker paru merupakan tumor ganas yang timbul dari epitel (jaringan seluler) saluran napas atau bronkus, baik secara primer maupun akibat adanya metastasis dari tumor jaringan sekitar. Gen yang paling banyak bermutasi adalah *V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog (KRAS)* pada kodon 12 dan 13. Perubahan molekuler yang dapat ditemukan adalah mutasi genetik, variasi *copy number*, dan metilasi *Deoxyribonucleic Acid (DNA)*. **Tujuan:** Untuk ditemukannya teori awal senyawa *CBD* dari daun tembakau sebagai kandidat terapi alami pengobatan kanker paru. **Metode:** Pembuatan ekstrak dari daun tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) yang kemudian diidentifikasi kandungan bioaktivitasnya serta dilakukan analisis *LC-HRMS* untuk menemukan senyawa aktif *cembranoid-type diterpene* dalam bentuk *thunbergol* dan dengan langkah akhir yaitu dilakukannya *molecular docking protein-ligand* menggunakan aplikasi *AutoDock*. **Hasil:** dari hasil proses *molecular docking* tersebut ditemukannya bahwa *ligand cembranoid-type diterpene* berikatan dengan reseptor *KRAS* dengan hasil ΔG (*Energi Gibbs*) - 7,0 kkal/mol, pK_i 7,35 μm dan jumlah ikatan hidrogen ILE36 (1,937 Angstrom). **Kesimpulan:** Studi ini membuktikan bahwa *Nicotiana tabacum L.* memiliki sifat antibakteri, antijamur, dan sebagai neuroprotektif, serta *thunbergol* atau *cembranoid-type diterpene* benar berpotensi sebagai terapi adjuvan kanker paru berbahan dasar alam.

Kata kunci: *Cembranoid-type diterpene, In Silico, Kanker Paru, KRAS, Tembakau*

ABSTRACT

Introduction: The World Health Organization (WHO) classifies lung cancer histologically into two main categories, namely non-small lung carcinoma (NSCLC) which includes adenocarcinoma, squamous cell carcinoma, and large cell carcinoma and small-cell lung carcinoma (SCLC) which includes oat-cell carcinoma and combined-sclc. Lung cancer is a malignant tumor that arises from the epithelium (cellular tissue) of the airway or bronchus, either primary or as a result of metastasis from surrounding tissue tumors. The most mutated gene is V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog (KRAS) at codons 12 and 13. Molecular changes that can be found are genetic mutations, copy number variations, and Deoxyribonucleic Acid (DNA) methylation. **Objective:** To discover the initial theory of CBD compounds from tobacco leaves as a natural therapeutic candidate for the treatment of lung cancer. **Methods:** Preparation of extracts from tobacco leaves (*Nicotiana tabacum* L.) which were then identified for their bioactivity content and LC-HRMS analysis was carried out to find active cembranoid-type diterpene compounds in the form of thunbergol and the final step was the molecular docking of protein-ligand using AutoDock application. **Results:** from the results of the molecular docking process it was found that the cembranoid-type diterpene ligand binds to the KRAS receptor with the results of ΔG (Gibbs Energy) -7.0 kcal/mol, pK_i 7.35 μm and the number of hydrogen bonds ILE36 (1.937 Angstrom). **Conclusion:** This study proved that *Nicotiana tabacum* L. has antibacterial, antifungal, and as neuroprotective properties, and thunbergol and thunbergol or cembranoid-type diterpene do have potential as nature-based lung cancer adjuvant therapies.

Keywords: Cembranoid-type diterpene, In Silico, Lung Cancer, KRAS, Tobacco

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR.....	iv
PERNYATAAN PUBLIKASI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS.....	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.3.1 Tujuan Umum	2
1.3.2 Tujuan Khusus	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Daun Tembakau (<i>Nicotiana tabalucum L.</i>).....	4
2.2 Kanker Paru.....	4
2.3 Mutasi Gen pada Kanker Paru	5
2.3.1 Mutasi <i>gen V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogen</i> <i>homolog (KRAS)</i>	5
2.4 Kinerja Diterpen Tipe Cembranoid dalam Menghambat Mutasi Gen pada Kanker.....	6
2.5 Kerangka Teori.....	7
2.6 Kerangka Konsep	7
2.7 Hipotesis.....	8

BAB III METODE PENELITIAN	9
3.1 Definisi Operasional.....	9
3.2 Jenis Penelitian.....	10
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian	10
3.3.1 Waktu Penelitian	10
3.3.2 Tempat Penelitian	10
3.4 Populasi dan Sampel Penelitian	11
3.4.1 Populasi Penelitian.....	11
3.4.2 Sampel Penelitian.....	11
3.5 Teknik Pengumpulan Data.....	11
3.5.1 Data Primer	11
3.5.2 Data Skunder.....	11
3.6 Pengolahan Data dan Analisis Data	12
3.6.1 Pengolahan Data	12
3.6.2 Analisis Data	12
3.7 Alur Penelitian	13
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	14
4.1 Hasil Penelitian	14
4.1.1 Hasil Uji Daun Tembakau.....	14
4.1.2 Hasil Analisis <i>FTIR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy)</i>	14
4.1.3 Hasil Analisis <i>GC-MS</i>	15
4.1.4 Hasil <i>In Silico (Docking)</i>	16
4.2 Pembahasan.....	17
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	19
5.1 Kesimpulan	19
5.2 Saran.....	19
DAFTAR PUSTAKA	20
LAMPIRAN.....	23

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 3.1 Definisi Operasional	9
Tabel 3.2 Waktu Penelitian	10
Tabel 4.1. Hasil Parameter Simplisia dan Organoleptik	14
Tabel 4.2. Hasil Rendemen Ekstrak	14
Tabel 4.3. Protein Mutan Target pada Kanker Paru Manusia	16
Tabel 4.4. Docking Antara Reseptor Dengan Ligan	17

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Kerangka Teori.....	7
Gambar 2.2 Kerangka Konsep	7
Gambar 3.1 Alur Penelitian.....	13
Gambar 4.1. Hasil <i>FTIR</i>	14
Gambar 4.2. Hasil <i>GC-MS</i>	16
Gambar 4.3. Hasil <i>Docking Protein-ligand</i>	16

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Artikel Publikasi	23

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

World Health Organization (WHO) menyatakan bahwa kanker paru-paru adalah penyebab kematian utama di dunia, terutama di Asia yang menyerang pria dan wanita¹. Di Indonesia, kanker paru-paru saat ini merupakan kanker paling utama penyebab kematian pada pria dan kanker ketiga penyebab kematian terbanyak pada wanita².

Kanker paru-paru disebabkan oleh pertumbuhan sel yang tidak terkontrol dalam jaringan paru-paru, terutama sel-sel yang melapisi saluran pernapasan. Paparan tar kumulatif dalam rokok tembakau adalah komponen utama penyebab kanker paru-paru. *The International Agency for Research on Cancer* mengidentifikasi setidaknya 50 karsinogen dan lebih dari 4000 konstituen dalam asap tembakau³. Faktor risiko yang banyak terlibat adalah pewarisan genetika⁴. Paparan logam seperti kromium, nikel, arsenik, dan hidrokarbon aromatik polisiklik juga dikaitkan dengan kanker paru-paru⁵.

Rokok mengandung senyawa beracun yang telah dikaitkan dengan produksi radikal bebas dan respons inflamasi yang terlibat dalam karsinogenesis dengan cara menginduksi metilasi (*Deoxyribonucleic Acid*) DNA dan ekspresi gen dalam sampel darah manusia⁶. Mutasi gen yang paling umum dilaporkan pada kanker paru-paru terjadi pada gen *V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog (KRAS)*. Produk gen yang dihasilkan terlibat dalam jalur sinyal yang terkait dengan proliferasi, diferensiasi sel, dan apoptosis. Pengujian molekuler dengan cara biopsi juga telah dilakukan pada beberapa gen yang paling sering bermutasi hal ini disebabkan oleh belum ditemukannya metode skrining awal yang dapat dilakukan oleh masyarakat umum⁷. Mutasi ini, terutama KRAS, menyebabkan kanker menjadi resisten terhadap terapi pribadi standar yang biasanya diberikan kepada penyintas kanker, yaitu *tyrosine kinase inhibitors (TKIs)* yang ditargetkan oleh susunan genetik individu, termasuk resistensi terhadap kemoterapi konvensional dan terapi radiasi⁸. Metode konvensional ini

tidak spesifik untuk sel kanker dan juga menyerang sel normal. Pengobatan yang tidak memadai dan munculnya resistensi menyebabkan prognosis yang buruk yang menyebabkan tingkat kematian pasien kanker paru-paru juga meningkat. Hal ini mengarahkan perlunya eksplorasi keanekaragaman hayati Indonesia yang berpotensi sebagai terapi penunjang (adjuvan) kanker berbahan alam yang tidak menimbulkan efek samping dan tertuju langsung pada sel target kanker.

Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) diklasifikasikan sebagai tanaman perkebunan, dan dihubungkan sebagai penyebab kanker paru ini namun saat ini diangkat sebagai ide penelitian yang digunakan sekaligus sebagai terapi penyembuhan kanker paru. Daun tembakau memiliki berbagai komponen kimia yang bersifat bioaktif, diantaranya *cembranoid-type diterpene* (CBD). Bioaktivitas CBD tembakau terlihat pada beberapa penelitian diantaranya memiliki aktifitas antifungi, antibiotik, antiviral dan antiparasit yang baik dan juga sebagai neuroprotektif⁹.

Selain itu, efektivitasnya terbukti sebagai agen antikanker dengan cara menginduksi apoptosis sel kanker. Studi tentang CBD dari tembakau dapat menurunkan viabilitas sel hepatokarsinoma, menghambat proliferasi sel, mengubah permeabilitas membran plasma, mempromosikan morfologi apoptosis, menghentikan siklus sel pada fase S, dan menginduksi apoptosis melalui jalur *p53-PUMA*, *PI3K-Akt*, dan *IL-1-NF- κ B-IAP pathways*¹⁰

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam riset ini adalah: (1) Apakah mutasi gen *KRAS* berhubungan dengan kejadian kanker paru?; (2) Apakah senyawa *cembranoid* terdapat pada daun tembakau?; (3) Bagaimana interaksi (*docking* molekuler) antara senyawa golongan CBD terhadap protein *KRAS* pada kanker paru?; (4) Apakah CBD dari daun tembakau dapat dipakai sebagai pengobatan kanker paru.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk ditemukannya teori awal senyawa CBD dari daun tembakau

sebagai kandidat terapi alami pengobatan kanker paru.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Meneliti mekanisme mutasi pada gen *KRAS* dengan kejadian kanker paru-paru
2. Menganalisis karakterisasi senyawa *cembronoid* dari daun tembakau
3. Mempelajari mekanisme interaksi (*docking* molekuler) antara senyawa golongan *CBD* terhadap protein *KRAS*
4. Melakukan analisis *CBD* daun tembakau sebagai anti kanker paru

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian adalah terungkapnya senyawa aktif golongan diterpen tipe *cembranoid* (DCB) dari daun tembakau murni (*Nicotiana tabacum L.*) serta peranannya sebagai antikanker paru target protein *KRAS*. Berdasarkan temuan ini akan terdapat pijakan penelitian selanjutnya yang mengarah kepada penemuan antikanker bersumber herbal atau pangan fungsional atau produk fungsional lain.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.)

Indonesia merupakan negara penghasil tembakau terbesar keenam setelah China, Brazil, India, Amerika Serikat, dan Malawi, yang menyumbang 1,91% dari total produksi tembakau dunia. Budidaya dan pemanfaatan tembakau telah dikenal di Indonesia sejak lama. Produk-produk yang dihasilkan dari tanaman tembakau sangat penting tidak hanya sebagai sumber pendapatan bagi petani tetapi juga bagi negara. Selain itu, tembakau merupakan salah satu tanaman terpenting karena daunnya digunakan sebagai bahan baku utama produksi rokok¹¹.

Kingdom	: Plantae
Divisio	: Spermatophyta
Sub divisio	: Angiospermae
Classis	: Dicotyledoneae
Ordo	: Solanales
Familia	: Solanaceae
Genus	: Nicotiana
Species	: <i>Nicotiana tabacum</i> L.

Daun tembakau mengandung sedikitnya 4000 senyawa bioaktif yang berbeda⁹. Diantaranya adalah *cembranoid-type diterpene* dan α - dan β -2,7,11-*cembratriene-4,6-diol* (CBT), yang dikenal sebagai agen antikanker dan tanaman tembakau mengandung jumlah *cembranoid-type diterpene* tertinggi¹².

2.2 Kanker Paru

Kanker paru merupakan tumor ganas yang timbul dari epitel (jaringan seluler) saluran napas atau bronkus, baik dari paru itu sendiri (primer) maupun akibat metastasis tumor di paru¹³. Hingga saat ini, penyebab sebenarnya dari kanker paru-paru masih belum diketahui, namun ada tiga faktor utama. Merokok, kecelakaan industri, dan polusi udara merupakan faktor yang berkontribusi terhadap meningkatnya kejadian kanker paru-paru. Dari faktor-faktor tersebut,

merokok memainkan peran paling penting dalam 85%. Faktor risiko lain juga harus dipertimbangkan dan dihindari, seperti: paparan asap tembakau, penggunaan produk tembakau seperti rokok elektrik dan pipa, cerutu, hookah, ganja, paparan radon, lingkungan, gaya hidup, riwayat penyakit pernafasan tidak menular dan menular, pewarisan genetika, hingga *Human Immunodeficiency Virus (HIV)*¹⁴.

Berdasarkan klasifikasi histologis, *World Health Organization (WHO)* mengklasifikasikan kanker paru-paru menjadi dua kategori histologis utama: *non-small cell lung carcinoma (NSCLC)* dan *small-cell lung carcinoma (SCLC)*. NSCLC meliputi adenokarsinoma, karsinoma sel skuamosa, dan karsinoma sel besar¹⁴.

Adenokarsinoma adalah tumor ganas yang timbul dari sel epitel kelenjar atau struktur seperti kelenjar. Tipe ini mencakup sekitar 40% dari semua kanker paru-paru dan merupakan subtype yang paling umum didiagnosis pada mereka yang tidak pernah merokok¹⁵. Kondisi ini terjadi di bagian pinggiran paru-paru dan sering ditemukan di area jaringan parut atau peradangan kronis.

Karsinoma sel skuamosa adalah jenis *non-small cell lung carcinoma (NSCLC)* yang paling sering didiagnosis. Karsinoma sel skuamosa biasanya muncul di pohon trakeobronkial, tetapi semakin banyak kasus yang terdiagnosis di pinggiran paru-paru.¹⁶

2.3 Mutasi Gen pada Kanker Paru

Mutasi genetik adalah perubahan yang terjadi pada materi genetik suatu sel berupa perubahan susunan gen (DNA) atau pada struktur atau jumlah kromosom, yang mengakibatkan perubahan pada karakteristik yang diinginkan⁷

2.3.1 Mutasi *gen V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogen homolog (KRAS)*

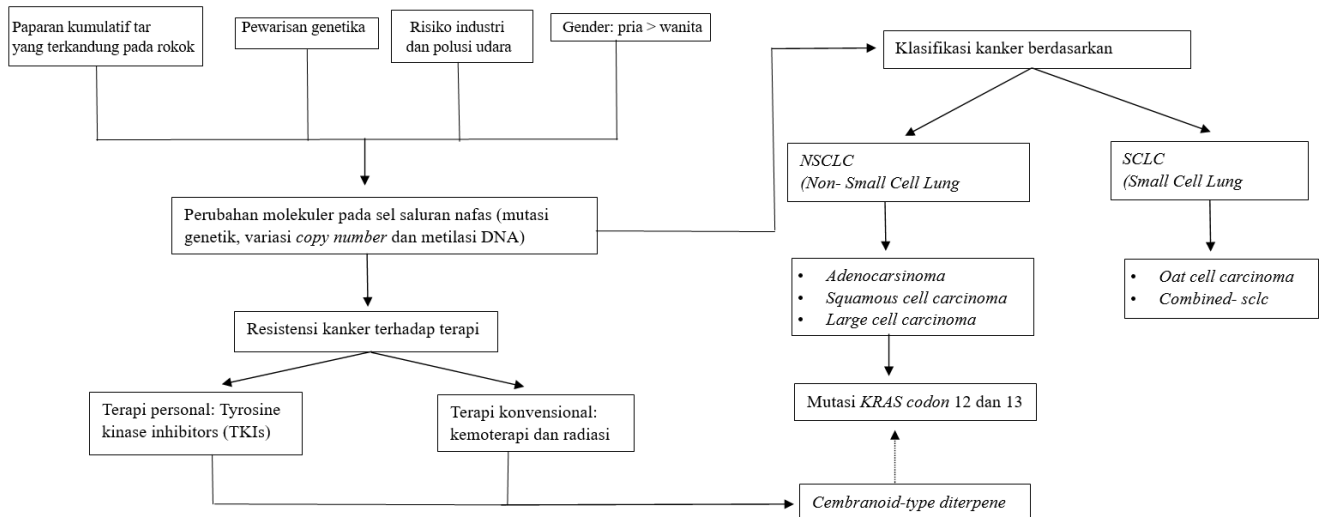
Kebanyakan *KRAS* memengaruhi kodon 12 atau 13 dan biasanya dikaitkan dengan riwayat merokok. Frekuensi mutasi *KRAS* bervariasi di antara kelompok etnis, jarang terjadi pada orang Asia dan paling umum pada orang Afrika Amerika.

Penelitian terkini telah mendeteksi mutasi *KRAS* pada sebagian pasien *NSCLC* bukan perokok, dengan frekuensi hingga 15%. Mutasi *KRAS* dikaitkan dengan insiden mutasi *EGFR* yang lebih tinggi dan oleh karena itu mungkin merupakan biomarker sehingga memperburuk prognosisnya⁷

2.4 Kinerja Diterpen Tipe Cembranoid Untuk Penghambat Mutasi Gen pada Kanker Paru-paru

Semisintesis CBD dalam tembakau telah terbukti menghasilkan senyawa cembranoid dengan aktivitas sitotoksik yang sangat baik. Semisintesis adalah proses sintesis kimia di mana produk disintesis dari bahan-bahan awal alami yang berasal dari hewan, tumbuhan, atau mikroorganisme, dan biasanya bahan-bahan awal yang diinginkan memiliki kerangka dasar atau beberapa gugus fungsi dengan komposisi produk akhir yang diinginkan¹⁷. Analog karbamat *CBTdiol* telah diuji dan koneksi ini ditentukan untuk memiliki aktivitas anti-invasif terhadap sel kanker prostat *PC3M* pada konsentrasi 1050 nM. Melalui esterifikasi, oksidasi, dan halogenasi *CBTdiol*, serangkaian senyawa telah disintesis yang dapat menunjukkan aktivitas antiproliferasi yang sangat baik terhadap sel epitel payudara yang sangat ganas¹⁸. *Alfa-CBTdiol* digunakan untuk mensintesis analog karbamatnya, yang menunjukkan aktivitas sitotoksik yang sangat baik terhadap sel kanker payudara *MDAMB-231*. Oleh karena itu, analog *CBTdiol carbamate* dapat digunakan sebagai penghambat *cMet* baru untuk mengendalikan kanker payudara yang bergantung *cMet*¹⁹. Ikatan rangkap $C=C8$ adalah yang paling penting, karena menunjukkan efek antimetastatik yang sangat baik terhadap metastasis prostat. *PC3* dan *PC3MCT+ cell line cancer*. Oleh karena itu, reaksi semisintetik *CBD* dalam tembakau telah menghasilkan beberapa senyawa cembranoid dengan aktivitas sitotoksik yang sangat baik, dan studi semisintetik telah mengungkapkan bahwa gugus hidroksil $C6$, ikatan rangkap $C11 = C12$, gugus cembranoid, dan ikatan rangkap sirkular lainnya yang aktif secara sitotoksik adalah diterpene¹⁸.

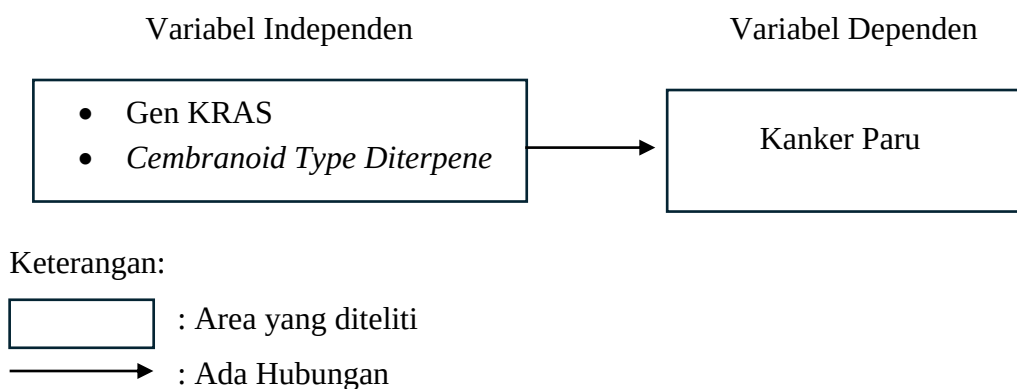
2.5 Kerangka Teori



Gambar 2.1 Kerangka Teori

2.6 Kerangka Konsep

Sebuah “kerangka konseptual” dikembangkan dari hasil tinjauan pustaka dan pertanyaan penelitian yang dirumuskan. Kerangka konseptual untuk suatu penelitian adalah deskripsi dan visualisasi hubungan atau koneksi antara satu konsep dengan konsep lain atau satu variabel dengan variabel lain dalam masalah yang sedang dipelajari.



Gambar 2.2 Kerangka Konsep

2.7 Hipotesis

Hipotesis adalah sebagai berikut.

1. H1: Terdapat interaksi signifikan antara *cembranoid-type diterpene* dan protein *KRAS* pada kanker paru-paru.
2. H0: Tidak ada interaksi signifikan antara *cembranoid-type diterpene* dan protein *KRAS* mutan pada kanker paru-paru.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Definisi Operasional

Tabel 3.1 Definisi Operasional

No.	Variabel	Defenisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala
1.	<i>KRAS</i>	Onkogen yang paling banyak bermutasi dan berperan dalam regulasi proliferasi sel	1. <i>Database genomic</i> 2. PBD (struktur 3D protein)	Skuens DNA <i>KRAS</i> Struktur 3D protein <i>KRAS</i>	Nominal Nominal
2.	Kanker paru	Tumor ganas yang tumbuh dari sel paru-paru	1. <i>Database Klinis</i> 2. Analisis ekspresi gen (<i>Python</i>)	Mutasi <i>KRAS</i> pada sampel kanker paru Level ekspresi gen <i>KRAS</i>	Nominal Ordinal
3.	<i>Cembrano id-type diterpene</i>	Senyawa kimia yang termasuk dalam kelas terpenoid sebagai antiinflamasi, antimikroba, antikanker, & neuroprotektif	1. <i>Database kimia (PubChem)</i> 2. Molekuler <i>docking software (AutoDock)</i>	Struktur molekul senyawa Skor afinitas (kcal/mol)	Nominal Ordinal
4.	Interaksi <i>KRAS-Cembrano id</i>	Interaksi molekul cembranoid dengan protein <i>KRAS</i> berdasarkan simulasi	1. <i>AutoDock</i>	Skor afinitas, Energi interaksi	Ordinal

molekuler
docking dan
dinamika
molekul

3.2 Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif dan analitis untuk menyelidiki interaksi antara gen *KRAS* dan senyawa *cembranoid-type diterpene* (*CBD*) dalam tanaman tembakau untuk menentukan apakah tanaman tembakau dapat menjadi pengobatan adjuvan potensial untuk kanker paru-paru dan dilakukan secara *in silico*.

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

3.3.1 Waktu Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini dilakukan mulai bulan Desember 2024 sampai Maret 2025.

Tabel 3.2 Waktu Penelitian

No.	Kegiatan	Bulan			
		Desember	Januari	Februari	Maret
1.	Studi literatur				
2.	Penyusunan artikel ilmiah				
3.	Evaluasi dan penyerahan artikel				

3.3.2 Tempat Penelitian

Identifikasi tanaman dan senyawa *cembranoid-type diterpene* dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam dan Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara serta studi *in silico* dilaksanakan di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.

3.4 Populasi dan Sampel Penelitian

3.4.1 Populasi Penelitian

Populasi berupa data sekuens gen *KRAS* dari data dasar seperti TCGA (*The Cancer Genome Atlas*) dan struktur data protein *KRAS* dan *ligan cembranoid* dari data base *PDB* (*Protein Data Bank*) atau *ChEMBL*

3.4.2 Sampel Penelitian

Sampel yang telah diambil akan diuji sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi yaitu:

1. Kriteria inklusi:
 - a. Data skuens gen *KRAS* dengan pengobatan spesifik yang relavan untuk kanker paru yang melibatkan kodon 12 dan kodon 13.
 - b. Struktur protein *KRAS* yang tersedia dalam format standar *file *.pbd* untuk analisis molekuler docking.
 - c. Senyawa cembranoid dengan data lengkap, termasuk struktur kimia 3D yang diambil dari basis data terpercaya seperti *ChEMBL* atau *PubChem*.

3.5 Teknik Pengumpulan Data

3.5.1 Data Primer

Metode pengumpulan data yang digunakan dalam penelitian ini adalah dengan menggunakan simulasi komputer, dengan meliputi:

1. Docking Molekuler, menggunakan software seperti *HEX 8.0* dan *AutoDock*. Protokol docking terdiri atas tiga tahap visualisasi, yaitu minimisasi energi *rigid-body*, perbaikan semi-fleksibel, dan *finishing refinement* dalam solvent eksplisit.
2. Pemodelan struktur 3D protein menggunakan *webserver SWISS-MODEL* dengan metode *homology modelling*.

3.5.2 Data Skunder

Data sekunder diambil dari sumber yang sudah ada, seperti database online atau literature ilmiah. Tekniknya meliputi:

1. Pencarian asam amino penyusun protein target dari *database National Center for Biotechnology Information (NCBI), United States National Library of Medicine (NLM), National Institute of Health (NIH)* dalam bentuk format *file *.pbd* menggunakan *software OpenBabel*.
2. Pencarian struktur senyawa aktif *cembranoid-type diterpene* dari *Nicotiana tabacum L.*, dari literatur ilmiah *PubChem Open Chemistry database*.
3. Pencarian data skuens dan ekspresi gen *KRAS* diambil dari *database TCGA, GEO, atau GenBank*.

3.6 Pengolahan Data dan Analisis Data

3.6.1 Pengolahan Data

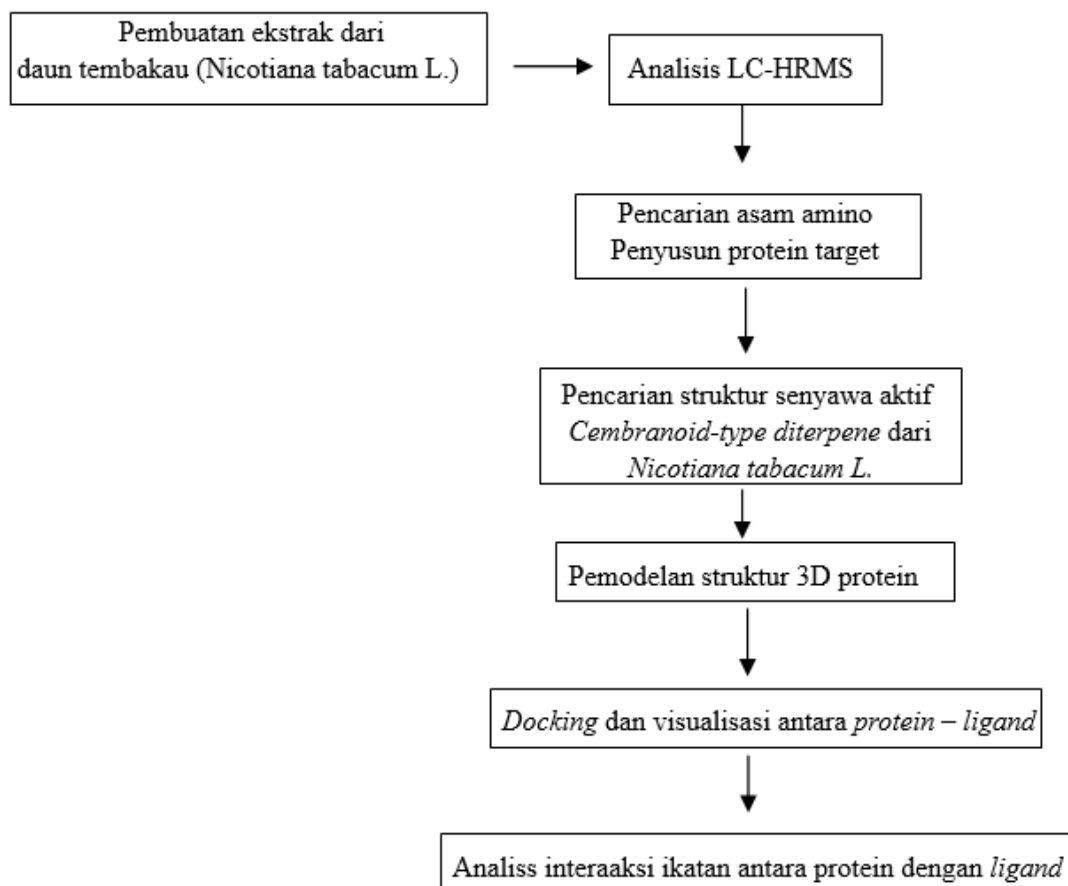
Beberapa tahapan yang dilakukan dalam pengolahan data penelitian ini, yaitu:

1. Pengumpulan data, yaitu data yang dikumpulkan terdiri dari data primer dan data skunder.
2. Validasi data, yaitu pemeriksaan kualitas data untuk memastikan validitas dan akurasi seperti data protein, data senyawa, dan mutasi data.
3. Analisis data, yaitu dengan dilakukannya docking molekuler antara protein *KRAS* dan *cembranoid* menggunakan *Autodock* atau *HEX 8.0*, dinamika molekuler, dan data genomik berupa analisis ekspresi gen *KRAS* menggunakan perangkat lunak bioinformatika seperti *Python*.
4. Pengolahan dan visualisasi data.
5. *Saving*, penyimpanan data yang akan diinterpretasikan.

3.6.2 Analisis Data

Setelah dilakukan analisis *in silico* selanjutnya data yang diperoleh dianalisis secara prinsip bioinformatika. Analisis interaksi antara protein dengan ligand dilakukan untuk melihat jumlah dan jenis ikatan yang terbentuk, seperti ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik, dan ikatan *van Der Waals*. Selain itu, juga dilakukan evaluasi energi ikatan dan titik ikatan antara ligand dengan senyawa aktif

3.7 Alur Penelitian



Gambar 3.1 Alur Penelitian

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Hasil Uji Daun Tembakau

Hasil uji daun tembakau dapat dilihat pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1. Hasil Parameter Simplisia dan Organoleptik

Hasil Parameter Simplisia	Hasil Organoleptik Ekstrak
Kadar air daun tembakau = 9,2 %	Ekstrak etanol serbuk daun tembakau 96% hasil maserasi berbentuk kental, berwarna hitam, dengan rasa pahit dan berbau khas

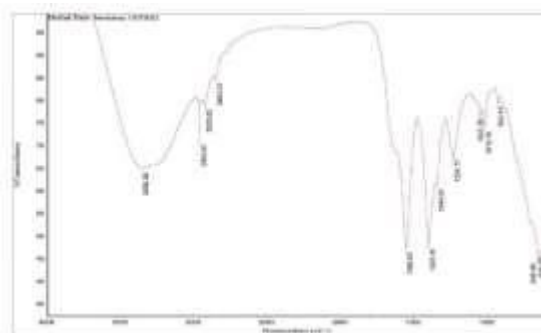
Hasil uji rendemen ekstrak dapat dilihat pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2. Hasil Rendemen Ekstrak

Metode Ekstraksi	Berat Serbuk yang Diekstraksi	Total Berat Ekstrak Hasil Ekstraksi	Nilai Rendemen
Maserasi	298 gram	20,2 gram	6,77%

4.1.2 Hasil Analisis *FTIR* (*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*)

Tujuan dari hasil ini adalah untuk mengetahui gugus fungsi senyawa dalam ekstrak daun tembakau. Berikut hasil pengujian *FTIR* yang menghasilkan spektra *IR* sebagai berikut



Gambar 4.1. Hasil FTIR

Identifikasi ekstrak daun tanaman tembakau menggunakan *spektrofotometer IR* menunjukkan penyerapan khas di area dengan bilangan gelombang 2962,87 cm⁻¹, 2925,65 cm⁻¹, dan 2853,01 cm⁻¹. Hal ini menunjukkan adanya ikatan C-H, Bilangan gelombang 1556,65 cm⁻¹ menunjukkan adanya aromatik C=C, kemudian adanya gugus CH₃ pada bilangan gelombang 1403,35 cm⁻¹, adanya gugus amina aromatik tersier pada bilangan gelombang 1344,00 cm⁻¹, dan adanya gugus amina alifatik tersier pada bilangan gelombang 1018,76 cm⁻¹. Adanya serapan pada bilangan gelombang 3358,35 menunjukkan ditemukannya gugus O-H.

4.1.3 Hasil Analisis GC-MS

Hasil GC-MS menunjukkan bahwa bahan aktif jenis *cembranoid-type diterpene* terdeteksi dalam bentuk *thunbergol*. *Cembratrienol* juga dikenal sebagai *thunbergol* atau *isocembroil*.

Minyak Thunberg; Isocembroil; Q67880110; 4-Isopropyl-1,7,11-trimethyl 2,7,11-cyclotetradecatrien-1-ol; 4-Isopropyl-1,7,11-trimethyl-2,7,11 -cyclotetradecatrien-1-ol #; (1R,2E,4S,7E,11E)-4-isopropyl-1,7,11-trimethylcyclotetradeca-2,7,11-trienol

Compound CID : 5363523

MF : C₂₀H₃₄O

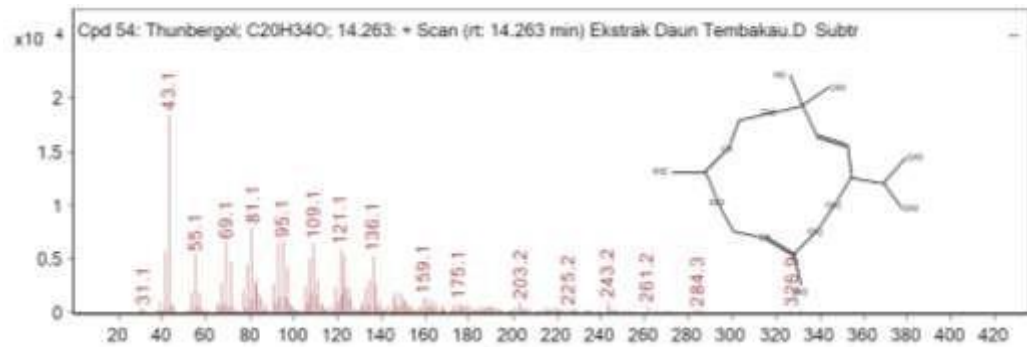
Molecular Weight : 290.5g/mol

IUPAC Name : (2E,7E,11E)-1,7,11-trimethyl-4-propan-2ylcyclotetradeca-2,7,11-trien-1-ol

Isomeric SMILES : C/C/1=C\CCC(/C=C/C(CC/C(=C/CC1)/C)C(C)C)(C)O

InChIKey : YAPXSYXFLHDPCK-MAUDFNNOSA-N

InChI : InChI=1S/C20H34O/c1-16(2)19-12-11-18(4)9-6-8
17(3)10-7-14-20(5,21)15-13-19/h9-10,13,15-16,19,21H,6
8,11-12,14H2,1-5H3/b15-13+,17-10+,18-9+ (PubChem)



Gambar 4.2. Hasil GC-MS

4.1.4 Hasil *In Silico* (Docking)

Protein target (KRAS) pada kanker paru manusia dapat dilihat pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3. Protein Mutan Target pada Kanker Paru Manusia

Protein	Sifat	Struktur 3D
<i>V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogen homolog (KRAS)</i>	Meningkatkan proliferasi sel ²⁰	

Gambar 4.3. Hasil *Docking Protein-ligand*

Untuk menentukan ligan mana yang paling mungkin berinteraksi dengan reseptor tertentu, dapat ditentukan dengan melihat prediksi energi bebas pengikatan. Semakin negatif energi *Gibbs*, semakin tinggi interaksi pengikatan antara ligan dan reseptor. Semakin rendah nilai resistansi, semakin kuat pengikatan ligan ke

protein, dan semakin tinggi jumlah ikatan hidrogen, semakin kuat pengikatan ligan ke protein²¹. Hasil *docking reseptor-ligan* dapat dilihat pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4. *Docking* Antara Reseptor - Ligan

<i>Cembranoid-type diterpene</i>	<i>KRAS</i>
ΔG (Energi Gibbs)	-7.0
pKi (Koefisien Hambatan)	7,35 μm
Jumlah ikatan hidrogen	1H $\square$ ILE36 (1,937 Angstrom)

Dari hasil pada tabel di atas, kita dapat melihat bahwa *KRAS* menunjukkan ΔG yang sangat negatif saat berinteraksi dengan *cembranoid-type diterpene*. *KRAS* juga memiliki koefisien hambatan yang sangat rendah. Nilai ΔG yang sangat negatif dan koefisien penghambatan yang sangat kecil memungkinkan kita untuk menyimpulkan bahwa *KRAS* memiliki kemungkinan potensi berikatan dengan *cembranoid-type diterpene*.

4.2 Pembahasan

Kanker paru-paru muncul akibat mutasi pada gen pemicu tumor dan onkogen, terutama *KRAS*. Mutasi ini lebih umum terjadi pada kanker paru-paru pada orang yang bukan perokok dibandingkan pada perokok. Penelitian ini menunjukkan bahwa gugus amina khas akibat ikatan *C-H*, gugus aromatik *C=C*, gugus *-CH₃*, gugus amina tersier aromatik, amina tersier alifatik, gugus *O-H* dan gugus amina tersier diidentifikasi melalui studi karakterisasi *FTIR*. Mereka menemukan bahwa senyawa *cembranoid-type diterpene* terdeteksi pada daun tembakau. Studi *GC-MS* mengungkapkan bahwa senyawa *cembranoid-type diterpene* aktif diperoleh dalam bentuk *thunbergol* yang memiliki rumus molekul $\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}$.

Hasil *docking* molekuler menunjukkan bahwa ligan *CBD* mengikat reseptor *KRAS* dengan evaluasi ΔG yang sangat negatif, nilai dan koefisien penghambatan yang sangat kecil. Telah ditunjukkan bahwa *KRAS* kemungkinan bereaksi dengan *cembranoid-type diterpene*. Hal ini sesuai dengan teori bahwa mutasi genetik paling umum pada kanker paru-paru melibatkan gen *KRAS* yang memengaruhi kodon 12 atau 13. *KRAS* juga mengkodekan aktivitas *GTPase* dari

protein yang mengatur pertumbuhan sel, diferensiasi, dan apoptosis. Hasil yang diperoleh konsisten dengan hipotesis H1 bahwa ada interaksi signifikan antara *cembranoid-type diterpene* dan juga menyatakan bahwa *cembranoid* dapat digunakan sebagai agen terapeutik melawan mutasi gen *KRAS*.

Sudah ada beberapa literatur tentang teori dan penelitian mengenai kanker paru-paru. Salah satunya adalah pekerjaan pada *KRAS*, khususnya mutasi pada kodon 12 dan 13. Namun, sedikit penelitian yang telah dilakukan pada *cembranoid* sebagai inhibitor *KRAS*. *Literature review* ini membuktikan teori penggabungan *CBD* ke protein *KRAS* untuk kanker paru-paru dan menunjukkan bahwa *CBD* dapat dikembangkan sebagai kemungkinan pengobatan herbal alami yang menargetkan protein tersebut melalui uji praklinis dan klinis yang valid. Keterbatasan teori dan kajian pustaka ini adalah belum adanya studi praklinis atau klinis yang dilakukan, dan hasil aktual terkait mutasi gen *KRAS* hanya dibuktikan dengan uji *in silico* yang dilakukan menggunakan *Artificial Intelligence* yaitu *AutoDock*.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Studi ini menunjukkan bahwa gen *KRAS* adalah gen yang paling sering bermutasi pada kanker paru-paru dan dapat menjadi target potensial untuk terapi berbasis senyawa alami. Analisis *in silico* senyawa *cembranoid-type diterpene* yang diekstrak dari daun tembakau menunjukkan bahwa:

1. Energi pengikatan ΔG *KRAS* negatif yang kuat (-7,0 kkal/mol) menunjukkan interaksi yang stabil.
2. Koefisien penghambatan (pKi) adalah 7,35 μM menunjukkan efek inhibitor yang kuat pada *KRAS*.
3. Ikatan hidrogen yang terbentuk dengan residu asam amino *ILE36* berkontribusi terhadap stabilitas kompleks ligan-protein .

Hasil ini mendukung potensi thunbergol atau *cembranoid-type diterpene* sebagai inhibitor *KRAS* yang dapat dikembangkan lebih lanjut untuk terapi penunjang kanker paru-paru berbahan dasar bahan alam.

5.2 Saran

Langkah selanjutnya untuk melengkapi penelitian ini adalah melakukan uji *in vitro* dan *in vivo* untuk mengonfirmasi hasil simulasi mengenai khasiat dan mekanisme kerja diterpen cembranoid terhadap *KRAS*. Disarankan agar bahan aktif dikembangkan sebagai agen terapeutik dalam bentuk sediaan oral, injeksi atau inhalasi untuk pengobatan adjuvan kanker paru-paru.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, et al. Cancer statistics for the year 2020: An overview. *Int J Cancer*. 2021;149(4):778-789. doi:10.1002/ijc.33588
2. Sugiharto S, Simanjuntak RAP, Larissa O. Kanker Paru, Faktor Risiko Dan Pencegahannya. *Pros SENAPENMAS*. Published online 2021:613. doi:10.24912/psenapenmas.v0i0.15060
3. Sembiring YE, Effendi WI, Dillon JJ, et al. Lung Cancer: A Literature Review. *J Respirasi*. 2023;9(3):246-251. doi:10.20473/jr.v9-i.3.2023.246-251
4. Juwita, Amalita N, Dewi MP. Faktor-Faktor Risiko yang Mempengaruhi Kanker Paru-Paru dengan Menggunakan Analisis Regresi Logistik. *UNPjoMath*. 2021;4(1):38-42.
5. Nooreldeen R, Bach H. Current and future development in lung cancer diagnosis. *Int J Mol Sci*. 2021;22(16). doi:10.3390/ijms22168661
6. Silva CP, Kamens HM. Cigarette smoke-induced alterations in blood: A review of research on DNA methylation and gene expression. *Exp Clin Psychopharmacol*. 2021;29(1):116-135. doi:10.1037/pha0000382
7. Imyanitov EN, Iyevleva AG, Levchenko EN. Molecular testing and targeted therapy for non-small cell lung cancer: Current status and perspectives. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2021;157:103194. doi:10.1016/j.critrevonc.2020.103194
8. Ni Nyoman Ayu Dewi, Agung Ngurah Satya Pranata A, Made Pramita Widya Suksmarini N. Mutasi Gen KRAS pada Kanker Kolorektal. 2021;44(2):117-125. <http://jurnalmka.fk.unand.ac.id>
9. Khasanah AU, Nastiti SJ. Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) Sebagai Antibakteri Terhadap *S. aureus* (ATCC 25923). *Al-Hayat J Biol Appl Biol*. 2021;4(1):19-32. doi:10.21580/ah.v4i1.6320
10. Wang J, Thomas HR, Li Z, et al. Puma, noxa, p53, and p63 differentially

- mediate stress pathway induced apoptosis. *Cell Death Dis.* 2021;12(7). doi:10.1038/s41419-021-03902-6
11. Patricia VM. Potensi Tanaman Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) Sebagai Salah Satu Diversifikasi Produk di Bidang Farmasi. *Bunga Rampai (b Chapter) Progr Stud Farm.* 2022;2(1):36-45.
 12. Tania L, Nugraha AS, Handoyo T, Kusumawardani B. Chemical composition of kasturi tobacco resinoid determined by gas chromatography-mass spectrometry. *Malaysian J Anal Sci.* 2021;25(4):661-668.
 13. Duma N, Santana-Davila R, Molina JR. Non–Small Cell Lung Cancer: Epidemiology, Screening, Diagnosis, and Treatment. *Mayo Clin Proc.* 2019;94(8):1623-1640. doi:10.1016/j.mayocp.2019.01.013
 14. Lupo PJ, Spector LG. Cancer progress and priorities: Childhood cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2020;29(6):1081-1094. doi:10.1158/1055-9965.EPI-19-0941
 15. Safnita D, Novianti H, Setiawati Y, Mayorita P. Adenokarsinoma Paru yang Didiagnosis dari Histopatologi Metastasis di Otak dan Perikardium. *Heal Med J.* 2022;5(1):66-74. doi:10.33854/heme.v5i1.1246
 16. Novello S, Kowalski DM, Luft A, et al. Pembrolizumab Plus Chemotherapy in Squamous Non-Small-Cell Lung Cancer: 5-Year Update of the Phase III KEYNOTE-407 Study. *J Clin Oncol.* 2023;41(11):1999-2006. doi:10.1200/JCO.22.01990
 17. Permatasari CP, Yerizon Y, Arnawa IM, Musdi E. Improving Students' Problem-Solving Ability through Learning Tools Based on Problem Based Learning. *J Phys Conf Ser.* 2020;1554(1). doi:10.1088/1742-6596/1554/1/012017
 18. Yan WX, Hunnewell P, Alfonse LE, et al. Functionally diverse type V CRISPR-Cas systems. *Science (80-).* 2019;363(6422):88-91. doi:10.1126/science.aav7271
 19. Hakiki A, Andika A, Rahmawati R. Studi Molecular Docking dan Prediksi ADMET Senyawa Turunan Kurkumin Sebagai Inhibitor Kasein Kinase 2- α .

- Lambung Farm J Ilmu Kefarmasian*. 2024;5(2):195. doi:10.31764/lf.v5i2.22563
20. Liu Z, Liu Y, Qian L, et al. A proteomic and phosphoproteomic landscape of KRAS mutant cancers identifies combination therapies. *Mol Cell*. 2021;81(19):4076-4090.e8. doi:10.1016/j.molcel.2021.07.021
21. Muhammed MT, Aki-Yalcin E. Molecular Docking: Principles, Advances, and Its Applications in Drug Discovery. *Lett Drug Des Discov*. 2022;21(3):480-495. doi:10.2174/1570180819666220922103109

LAMPIRAN

Lampiran 1. Artikel Publikasi

IN SILICO: HUBUNGAN ANTARA KRAS (KI-RAS2 KIRSTEN RAT SARCOMA VIRAL ONCOGENE HOMOLOG) PADA KANKER PARU DENGAN CEMBRANOID-TYPE DITERPENE

Afifah Endah Dwi Purianti¹, Humairah Medina Liza Lubis²

¹Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

²Departemen Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

Corresponding Author: Humairah Medina Liza Lubis

Abstrak

Pendahuluan: *World Health Organization (WHO)* mengklasifikasikan kanker paru secara histologis menjadi dua kategori utama, yaitu *non-small lung carcinoma (NSCLC)* yang meliputi adenokarsinoma, karsinoma sel skuamosa, serta karsinoma sel besar dan *small-cell lung carcinoma (SCLC)* yang meliputi *oat-cell carcinoma* serta *combined-sclc*. Kanker paru merupakan tumor ganas yang timbul dari epitel (jaringan seluler) saluran napas atau bronkus, baik secara primer maupun akibat adanya metastasis dari tumor jaringan sekitar. Gen yang paling banyak bermutasi adalah *V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog (KRAS)* pada kodon 12 dan 13. Perubahan molekuler yang dapat ditemukan adalah mutasi genetik, variasi *copy number*, dan metilasi *Deoxyribonucleic Acid (DNA)*.

Tujuan: Untuk ditemukannya teori awal senyawa *CBD* dari daun tembakau sebagai kandidat terapi alami pengobatan kanker paru. **Metode:** Pembuatan ekstrak dari daun tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) yang kemudian diidentifikasi kandungan bioaktivitasnya serta dilakukan analisis *LC-HRMS* untuk menemukan senyawa aktif *cembranoid-type diterpene* dalam bentuk *thunbergol* dan dengan langkah akhir yaitu dilakukannya *molecular docking protein-ligand* menggunakan aplikasi *AutoDock*. **Hasil:** dari hasil proses *molecular docking* tersebut ditemukannya bahwa *ligand cembranoid-type diterpene* berikatan dengan reseptor *KRAS* dengan hasil ΔG (*Energi Gibbs*) -7,0 kkal/mol, pKi 7,35

μm dan jumlah ikatan hidrogen ILE36 (1,937 Angstrom). **Kesimpulan:** Studi ini membuktikan bahwa *Nicotiana tabacum* L. memiliki sifat antibakteri, antijamur, dan sebagai neuroprotektif, serta *thunbergol* atau *cembranoid-type diterpene* benar berpotensi sebagai terapi adjuvan kanker paru berbahan dasar alam.

Kata kunci: *Cembranoid-type diterpene*, *In Silico*, Kanker Paru, KRAS, Tembakau

Abstract

Introduction: The World Health Organization (WHO) classifies lung cancer histologically into two main categories, namely non-small lung carcinoma (NSCLC) which includes adenocarcinoma, squamous cell carcinoma, and large cell carcinoma and small-cell lung carcinoma (SCLC) which includes oat-cell carcinoma and combined-sclc. Lung cancer is a malignant tumor that arises from the epithelium (cellular tissue) of the airway or bronchus, either primary or as a result of metastasis from surrounding tissue tumors. The most mutated gene is V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog (KRAS) at codons 12 and 13. Molecular changes that can be found are genetic mutations, copy number variations, and Deoxyribonucleic Acid (DNA) methylation. **Objective:** To discover the initial theory of CBD compounds from tobacco leaves as a natural therapeutic candidate for the treatment of lung cancer. **Methods:** Preparation of extracts from tobacco leaves (*Nicotiana tabacum* L.) which were then identified for their bioactivity content and LC-HRMS analysis was carried out to find active *cembranoid-type diterpene* compounds in the form of *thunbergol* and the final step was the molecular docking of protein-ligand using AutoDock application. **Results:** from the results of the molecular docking process it was found that the *cembranoid-type diterpene* ligand binds to the KRAS receptor with the results of ΔG (Gibbs Energy) -7.0 kcal/mol , pK_i $7.35 \mu\text{m}$ and the number of hydrogen bonds ILE36 (1.937 Angstrom). **Conclusion:** This study proved that *Nicotiana tabacum* L. has antibacterial, antifungal, and as neuroprotective properties, and *thunbergol* and *thunbergol* or *cembranoid-type diterpene* do have potential as nature-based lung cancer adjuvant therapies.

Keywords: *Cembranoid-type diterpene, In Silico, Lung Cancer, KRAS, Tobacco*

PENDAHULUAN

World Health Organization (WHO) menyatakan pada tahun 2022 kanker paru menempati posisi ke tiga kanker yang menyebabkan kematian sekitar 9,7 juta orang atau sekitar 18,7% setelah kanker payudara dan kanker rahim di seluruh dunia¹. Di Indonesia, kanker paru-paru merupakan penyebab kematian terbanyak pada laki-laki dan penyebab kematian paling banyak ke tiga pada perempuan². Kanker paru disebabkan oleh neoplasma yang terdapat pada jaringan paru terutama pada sel-sel yang melapisi saluran pernapasan atau adanya metastasis pada jaringan sekitar paru³. Berdasarkan klasifikasi histologis, *World Health Organization* membagi kanker paru menjadi dua klasifikasi berbeda, yaitu *non-small cell lung carcinoma* (NSCLC) meliputi *adenocarcinoma*, *squamous cell carcinoma*, dan *large cell carcinoma* serta *small-cell lung carcinoma* (SCLC) yang meliputi *oat cell carcinoma*, dan *combined sclc*⁴. Faktor risiko yang paling utama adalah paparan kumulatif terhadap tar yang terkandung didalam rokok tembakau. *The international Agency for Research on Cancer* mengidentifikasi paling sedikit 50 karsinogen dan lebih dari 4000 konstituen dalam asap tembakau⁵. Rokok mengandung senyawa beracun yang telah dikaitkan dengan produksi radikal bebas dan respons inflamasi yang terlibat dalam karsinogenesis dengan cara menginduksi metilasi (*Deoxyribonucleic Acid*) DNA

dan ekspresi gen dalam sampel darah manusia. Mutasi gen yang paling umum dilaporkan adalah gen *Vi-kiras2 Kirsten sarcoma viral oncogene homolog* (KRAS)⁶ yang paling sering terjadi pada kodon 12 dan 13 . Pengujian molekuler dengan cara biopsi juga telah dilakukan pada beberapa gen yang paling sering bermutasi hal ini disebabkan oleh belum ditemukannya metode skrining awal yang dapat dilakukan oleh masyarakat umum⁷. Mutasi ini, terutama KRAS menyebabkan kanker menjadi resisten terhadap terapi standar yang biasanya diberikan kepada penyintas kanker, yaitu *tyrosine kinase inhibitors* (TKIs) yang ditargetkan oleh susunan genetic individu, termasuk resistensi terhadap kemoterapi konvensional dan terapi radiasi⁸. Metode konvensional ini tidak spesifik untuk sel kanker dan menyerang sel normal selain sel kanker yang ada⁹. Pengobatan yang tidak memadai dan munculnya resistensi menyebabkan prognosis yang buruk, dan tingkat kematian pasien kanker paru-paru juga meningkat. Banyaknya hal tersebut mengarahkan perlunya kebutuhan untuk mempelajari keanekaragaman hayati Indonesia yang berpotensi sebagai terapi penunjang (adjuvan) kanker berbahan alam yang tidak menimbulkan efek samping dan tertuju langsung pada sel target kanker. Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) diklasifikasikan sebagai tanaman perkebunan, dan dihubungkan sebagai penyebab kanker paru-paru dibahas sebagai ide penelitian yang digunakan sekaligus sebagai terapi kuratif

untuk penyakit ini. Daun tembakau memiliki berbagai komponen kimia, banyak di antaranya bersifat bioaktif. Cembranoid adalah diterpen makrosiklik yang terutama ditemukan pada tanaman yang termasuk dalam genus *Nicotiana* dan pinus, serta organisme laut. Daun tembakau memiliki berbagai komponen kimia yang bersifat bioaktif, diantaranya *cembranoid-type diterpene (CBD)* yang merupakan diterpen makrosiklik. Bioaktivitas *CBD* tembakau terlihat pada beberapa penelitian diantaranya memiliki aktifitas antijamur, antibakteri, antivirus dan antiparasit yang baik dan juga sebagai neuroprotektif¹⁰. Selain itu keefektifannya juga terbukti sebagai agen antikanker dengan cara menginduksi apoptosis sel kanker. Penelitian *CBD* dari tembakau dapat menurunkan viabilitas sel hepatokarsinoma, menghambat proliferasi sel, mengubah permeabilitas membran plasma, mempromosikan morfologi apoptosis, menghentikan siklus sel pada fase S, dan menginduksi apoptosis melalui jalur *p53-PUMA*, *PI3K-Akt*, dan *IL-1-NF- κ B-IAP pathways*¹¹.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini adalah penelitian deskriptif dan analitis untuk menyelidiki interaksi antara gen *KRAS* dan senyawa diterpena mirip *cembranoid (CBD)* dalam tanaman tembakau untuk menentukan apakah tanaman tembakau dapat menjadi pengobatan adjuvan potensial untuk kanker paru-paru. Ini

adalah jenis penelitian *in silico*. Waktu pelaksanaan dilakukan mulai dari bulan desember 2024 sampai dengan bulan Maret 2025 dimulai dari studi literatur sampai dengan evaluasi dan penyerahan artikel. Tembakau murni (*Nicotiana tabacum* L.) diidentifikasi terlebih dahulu kemudian dilakukan preparasi sampel dan maserasi sampel untuk mengetahui kandungan bioaktif didalamnya, setelah itu dilakukan analisis *Spektroskopi Fourier Transform Infrared (FTIR)* untuk mengetahui gugus fungsi pada jaringan daun tembakau yang telah diisolasi, kemudian dilakukan analisis *Gas Chromatography and Mass Spectroscopy (GC-MS)* untuk mendapatkan senyawa aktif *cembranoid-type diterpene* dalam bentuk *thunbergol*, dan yang terakhir dilakukannya analisis *in silico* untuk menginvestigasi docking molekuler dengan protein ligan.

Preparasi sampel dan maserasi dimulai dengan membersihkan, mencuci, mengiris tipis, mengeringkan, dan menghaluskan 2.500 gram daun tembakau. Setelah didapat serbuk simplisianya kemudian direndam etanol 96% (1:10) dalam dengan cahaya yang gelap selama 3 hari dan diaduk berulang kali. Campuran tersebut disaring menggunakan kertas saring Whatman no.40 menggunakan metode vacuum filtration dan kemudian diuapkan dengan rotary evaporator dengan suhu 55 C dan tekanan 80 mBar.

Selanjutnya Sampel ekstrak etanol 96% daun tembakau sebanyak 5–10% dicampur dengan bahan *nujol mull* dan

diaduk hingga terbentuk pasta. Pasta tersebut kemudian diteteskan ke dua pelat NaCl. Setelah itu dimasukkan ke permukaan sel pada instrumen spektrum *FTIR* untuk analisis gugus fungsinya. Sampel cairan tersebut kemudian diinjeksikan ke dalam injector dan kemudian diuapkan. Sampel uap kemudian dilakukan analisis *GC-MS* dengan cara diangkut oleh gas pembawa menuju kolom untuk dipisahkan, setelah itu setiap komponen akan melewati ruang ionisasi.

Selanjutnya dilakukan analisis *In Silico* dengan langkah awal yaitu pencarian populasi penelitian berupa data skunder sekuens gen *KRAS* dari data dasar seperti *TCGA (The Cancer Genome Atlas)* dan struktur data protein *KRAS* dan ligan cembranoid dari *data base PDB (Protein Data Bank)* atau *ChEMBL* dalam bentuk *format file *.pbd* menggunakan *software OpenBabel*. Kemudian pencarian struktur senyawa aktif *cembranoid-type diterpene* dari *Nicotiana tabacum L.*, dari literatur ilmiah *PubChem Open Chemistry database* dan pencarian data skuens dan ekspresi gen *KRAS* diambil dari *database TCGA, GEO, atau GenBank*. Selanjutnya dilakukan pemodelan struktur 3D protein menggunakan *webserver SWISS-MODEL* dengan metode *homology modelling* dan divalidasi dengan *Ramachandran plot*. *Docking Molekuler* menggunakan *software seperti HEX 8.0 dan AutoDock* dengan program *autogrid4*.

Setelah dilakukan analisis *in silico* selanjutnya data yang diperoleh dianalisis secara prinsip bioinformatika.

Analisis interaksi antara protein dengan ligan dilakukan menggunakan *software LIGPLOT+* untuk melihat jumlah dan jenis ikatan yang terbentuk, seperti ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik, dan ikatan *van Der Waals* berdasarkan struktur 3D. Selain itu, juga dilakukan evaluasi energi ikatan dan titik ikatan antara ligan dengan senyawa aktif *cembranoid-type diterpene*.

HASIL PENELITIAN

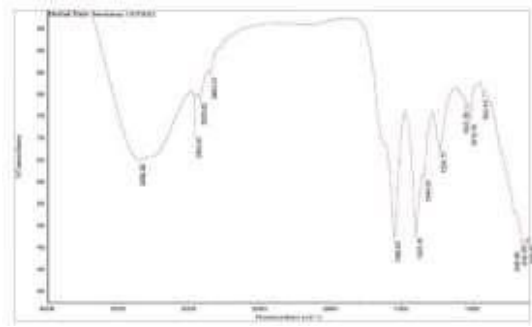
Tabel 1. Hasil simplisia dan organoleptik ekstrak

Hasil Simplisia	Hasil Organoleptik
Kadar air daun tembakau = 9,2%	Ekstrak etanol serbuk daun tembakau 96% hasil maserasi berbentuk kental, berwarna hitam, dengan rasa pahit dan berbau khas

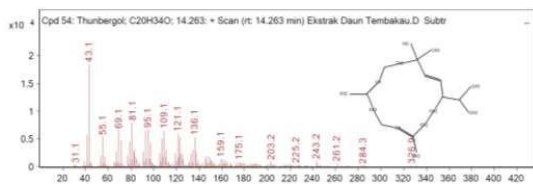
Tabel 2. Hasil rendemen ekstrak

Metode ekstraksi	Berat serbuk ekstraksi	Total berat hasil ekstraksi	Nilai rendemen
Maserasi	298 gram	20,2 gram	6,77%

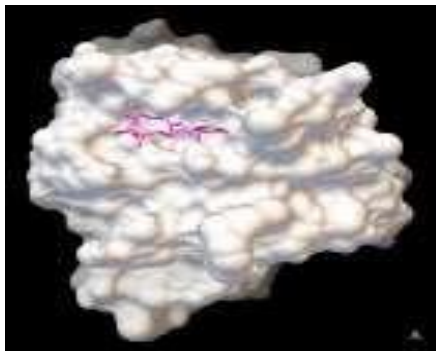
Gambar 1. Hasil analisis *FTIR* yang menghasilkan gugus fungsi ekstrak daun tembakau



Gambar 2. Hasil analisis GC-MS berupa *cembranoid-type diterpene* dalam bentuk thunbergol (*isocembrol*)



Gambar 3. Hasil interaksi ligan *cembranoid-type diterpene* – reseptor KRAS



Tabel 3. Hasil *docking* ligand *cembranoid-type diterpene* – reseptor KRAS

<i>Cembranoid-type diterpene</i>	KRAS
ΔG (Energi Gibbs)	-7.0
pKi (Koefisien Hambatan)	7,35 μm
Jumlah ikatan hidrogen	1H $\square$ ILE36 (1,937 Angstrom)

PEMBAHASAN

Kanker paru-paru muncul akibat mutasi pada gen pemicu tumor dan onkogen, terutama *KRAS*. Mutasi ini lebih umum terjadi pada kanker paru-paru pada orang yang bukan perokok dibandingkan pada perokok. Penelitian ini menunjukkan bahwa gugus amina khas akibat ikatan C-H, gugus aromatik C=C, gugus -CH₃, gugus amina tersier aromatik, amina tersier alifatik, gugus O-H dan gugus amina tersier diidentifikasi melalui studi karakterisasi FTIR.

Berdasarkan Tabel 1, kadar air daun tembakau yang sudah diproses dalam bentuk simplisia adalah 9,2%. Kadar air ideal pada simplisia bila berkisar <10%, karena apabila melebihi kadar normal maka serbuk simplisia dinilai terlalu lembab dan menjadi rentan terhadap pertumbuhan bakteri serta jamur¹². Hasil uji organoleptik tidak selalu sama, hasilnya bisa saja berbeda tergantung dari jenis daun tembakau, lokasi budidaya daun tembakau yang digunakan, dan cairan yang digunakan dalam proses maserasi¹³.

Berdasarkan Tabel 2, nilai rendemen yang diperoleh adalah 6,77%. Semakin lama waktu destilasi yang dilakukan, maka semakin banyak minyak atsiri yang terekstrak oleh uap air sehingga meningkatkan nilai rendemennya¹⁴ pada penelitian kali ini waktu destilasi yang digunakan adalah selama tiga jam lamanya.

Berdasarkan Gambar 1, identifikasi ekstrak daun tembakau

menggunakan *spektrofotometer IR* menunjukkan adanya serapan khas pada rentang bilangan gelombang 2962,87 cm⁻¹, 2925,65 cm⁻¹, dan 2853,01 cm⁻¹. Hal ini menunjukkan adanya ikatan C-H, Bilangan gelombang 1556,65 cm⁻¹ menunjukkan adanya aromatik C=C, kemudian adanya gugus CH₃ pada bilangan gelombang 1403,35 cm⁻¹, adanya gugus amina aromatik tersier pada bilangan gelombang 1344,00 cm⁻¹, dan adanya gugus amina alifatik tersier pada bilangan gelombang 1018,76 cm⁻¹. Adanya serapan pada bilangan gelombang 3358,35 menunjukkan adanya gugus O-H.

Berdasarkan Gambar 2, hasil GC-MS menunjukkan bahwa bahan aktif jenis *cembranoid-type diterpene* terdeteksi dalam bentuk thunbergol. *Cembratrienol* juga dikenal sebagai thunbergol (C₂₀H₃₄O) atau *isocembroil*. Minyak Thunberg; *Isocembroil*; Q67880110; 4-Isopropyl-1,7,11-trimethyl-2,7,11- cyclotetradecatrien-1-ol; 4-Isopropyl-1,7,11-trimethyl-2,7,11 - cyclotetradecatrien-1-ol #; (1R,2E,4S,7E,11E)-4-isopropyl-1,7,11-trimethylcyclotetradeca-2,7,11-trienol.

Berdasarkan Gambar 3, untuk menentukan ligan mana yang paling mungkin berinteraksi dengan reseptor tertentu, dapat dilihat dari prediksi energi bebas pengikatan. Semakin negatif energi *Gibbs*, semakin tinggi interaksi pengikatan antara ligan dan reseptor. Semakin rendah nilai resistansi, semakin kuat pengikatan ligan ke protein, dan semakin tinggi jumlah ikatan hidrogen,

semakin kuat pengikatan ligan ke protein¹⁵, dari hasil tabel 3 kita dapat melihat bahwa *KRAS* menunjukkan ΔG yang sangat negatif saat berinteraksi dengan ligan diterpena tipe *cembranoid*. *KRAS* juga memiliki koefisien hambatan yang sangat rendah. Nilai ΔG yang sangat negatif dan koefisien penghambatan yang sangat kecil memungkinkan kita untuk menyimpulkan bahwa *KRAS* kemungkinan adanya interaksi yang terjadi.

KESIMPULAN

Studi ini menunjukkan bahwa gen *KRAS* adalah gen yang paling sering bermutasi pada kanker paru-paru dan dapat menjadi target potensial untuk terapi berbasis senyawa alami. Analisis *in silico* senyawa *cembranoid-type diterpene* yang diekstrak dari daun tembakau menunjukkan bahwa:

1. Energi pengikatan ΔG *KRAS* negatif yang kuat (-7,0 kkal/mol) menunjukkan interaksi yang stabil.
2. Koefisien penghambatan (pKi) adalah 7,35 μ m menunjukkan efek inhibitor yang kuat pada *KRAS*.
3. Ikatan hidrogen yang terbentuk dengan residu asam amino ILE36 berkontribusi terhadap stabilitas kompleks ligan-protein.

Hasil ini mendukung potensi thunbergol atau *cembranoid-type diterpene* sebagai inhibitor *KRAS* yang dapat dikembangkan lebih lanjut untuk

terapi penunjang kanker paru-paru berbahan dasar bahan alam.

SARAN

Langkah selanjutnya untuk melengkapi penelitian ini adalah melakukan uji in vitro dan in vivo untuk mengonfirmasi hasil simulasi mengenai khasiat dan mekanisme kerja diterpen cembranoid terhadap KRAS. Disarankan agar bahan aktif dikembangkan sebagai agen terapeutik dalam bentuk sediaan oral, injeksi atau inhalasi untuk pengobatan adjuvan kanker paru-paru.

REFRENSI

1. Kesehatan K, Indonesia R. Rencana kanker nasional 2024-2034. 2024;(September).
2. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020 : GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. 2021;71(3):209-249. doi:10.3322/caac.21660
3. Sugiharto S, Simanjuntak RAP, Larissa O. Kanker Paru, Faktor Risiko Dan Pencegahannya. *Pros SENAPENMAS*. Published online 2021:613. doi:10.24912/psenapenmas.v0i0.15060
4. Lupo PJ, Spector LG. Cancer Progress and Priorities : Childhood Cancer. 2022;(713). doi:10.1158/1055-9965.EPI-19-0941.Cancer
5. Juwita, Amalita N, Dewi MP. Faktor-Faktor Risiko yang Mempengaruhi Kanker Paru-Paru dengan Menggunakan Analisis Regresi Logistik. *UNPjoMath*. 2021;4(1):38-42.
6. Silva CP, Kamens HM. Cigarette smoke-induced alterations in blood: A review of research on DNA methylation and gene expression. *Exp Clin Psychopharmacol*. 2021;29(1):116-135. doi:10.1037/pha0000382
7. Riely GJ, Wood DE, Ettinger DS, et al. Non – Small Cell Lung Cancer , Version 4 . 2024. 2024;22(4):249-274. doi:10.6004/jnccn.2204.0023
8. Ni Nyoman Ayu Dewi, Agung Ngurah Satya Pranata A, Made Pramita Widya Suksmarini N. Mutasi Gen KRAS pada Kanker Kolorektal. 2021;44(2):117-125. <http://jurnalmka.fk.unand.ac.id>
9. Ilmiah J, Kesehatan I. 2 1, 2. 2021;8487(2):322-333.
10. Khasanah AU, Nastiti SJ. Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) Sebagai Antibakteri Terhadap *S. aureus* (ATCC 25923). *Al-Hayat J Biol Appl Biol*. 2021;4(1):19-32. doi:10.21580/ah.v4i1.6320
11. Wang J, Thomas HR, Li Z, et al. Puma, noxa, p53, and p63 differentially mediate stress pathway induced apoptosis. *Cell Death Dis*. 2021;12(7). doi:10.1038/s41419-021-03902-6
12. BPOM RI. Pedoman Penyiapan Bahan Baku Obat Bahan Alam Berbasis Ekstrak / Fraksi. *Badan Pengawas Obat dan Makanan RI*.

2023;(November):45.

13. Suci Bestari R, Santya Budi F, Usdiana Rosyidah D, Dwi Cahyo F, Korespondensi P. MEDICA ARTERIANA (MED-ART) Uji Efektivitas Ekstrak Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) terhadap Mortalitas Larva *Aedes aegypti* Effectiveness Test Of Extract Tobacco Leaf (*Nicotiana tabacum* L.) Against Mortality Of Larvae *Aedes aegypti*. *Medica Arter*. 2020;2(2):63-70.
14. Nurnasari E, Prabowo H. Pengaruh Ukuran Sampel dan Lama Waktu Destilasi terhadap Rendemen Minyak Atsiri Tembakau Lokal Indonesia. *Bul Tanam Tembakau, Serat Miny Ind*. 2020;11(2):47. doi:10.21082/btsm.v11n2.2019.47-57
15. Muhammed MT, Aki-Yalcin E. Molecular Docking: Principles, Advances, and Its Applications in Drug Discovery. *Lett Drug Des Discov*. 2022;21(3):480-495. doi:10.2174/1570180819666220922103109