

STUDI INTERAKSI MOLEKULER MELALUI *MOLECULAR DOCKING* SENYAWA *CEMBRANOID-TYPE DITERPENE* DARI DAUN TEMBAKAU (*Nicotiana tabacum L.*) DENGAN MUTASI GEN PADA KANKER PARU

SKRIPSI



UMSU

Unggul | Cerdas | Terpercaya

Oleh:

AINUR ROFIQ

2108260045

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
MEDAN**

2025

**STUDI INTERAKSI MOLEKULER MELALUI MOLECULAR
DOCKING SENYAWA *CEMBRANOID*-TIPE DITERPENE
DARI DAUN TEMBAKAU (*Nicotiana tabacum* L.)
DENGAN MUTASI GEN PADA
KANKER PARU**

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



UMSU

Unggul | Cerdas | Terpercaya

Ainur Rofiq

2108260045

**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 : Ainur Rofiq

NPM : 2108260045

Judul Skripsi : **Studi Interaksi Molekuler Melalui *Molecular Docking* Senyawa *Cembranoid-Tipe Diterpene* Dari Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) Dengan Mutasi Gen Pada Kanker Paru**

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

Medan, 7 Februari 2025



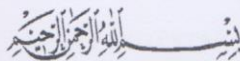
1000
SERBILAH RUPIAH
TBL 20
METERAI
TEMPEL
8A517ALX035339221

(Ainur Rofiq)



MAJELIS PENDIDIKAN TINGGI, PENELITIAN & PENGEMBANGAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
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 : Ainur Rofiq

NPM : 2108260045

Judul : : Studi Interaksi Molekuler Melalui *Molecular Docking* Senyawa *Cembranoid-Tipe Diterpene* Dari Daun Tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) Dengan Mutasi Gen Pada Kanker Paru

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,



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

NIDN: 0106098201

Ketua Program Studi
Pendidikan Dokter FK UMSU

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

NIDN: 0112098605

Ditetapkan di : Medan
Tanggal : 07 Februari 2025

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh

Puji Syukur saya panjatkan ke hadirat Allah SWT, yang telah memberikan Rahmat dan hidayah-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini dengan baik. Shalawat serta salam senantiasa saya curahkan kepada baginda Rasulullah SAW, yang telah membimbing umat manusia menuju jalan yang benar dan memberikan inspirasi bagi saya dalam meneliti perjalanan penelitian ilmiah ini.

Skripsi ini merupakan hasil dari perjalanan panjang yang penuh dengan berbagai tantangan dan perjuangan. Saya menyadari bahwa tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, tidak akan mudah bagi saya untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, saya mengucapkan terima kasih kepada:

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. Abdul Gafar Parinduri, M.Ked (For), Sp.F selaku Dosen Pembimbing akademik saya yang telah memberikan arahan dan masukan selama saya menempuh pendidikan.
4. Assoc. Prof. Dr. Dr. Humairah Medina Liza Lubis, M.Ked.(PA)., Sp.PA selaku Dosen Pembimbing yang telah memberikan arahan, masukan, serta bimbingan yang berharga dalam menyusun skripsi ini.
5. Kedua orang tua saya, Ayahanda Randi Supriandi dan Ibunda Carsih yang selalu mendukung, memberikan semangat, kasih sayang, bantuan dan rasa kebersamaan yang tidak pernah berhenti sampai penulis menyelesaikan skripsi ini. Ayahanda dan/ibunda tercinta'yang selalu mendoakan, mendukung, dan menjadi'motivasi bagi saya untuk menyelesaikan skripsi ini.
6. Keluarga saya Siti Asmara, Miftahul Jannah, Seni Wati dan semuanya

yang tidak bisa sebutkan satu satu, terimakasih atas semangat dan bantuannya selama ini.

7. Terima kasih kepada Jasmine Raisa Rizky Putri atas dukungan dan kebersamaannya. Kehadiranmu membuat setiap proses lebih bermakna
8. Teman tersayang Detti Destya Ayu, Hendradi, Humairani Putri, Tristan Kanginan, Novega Ramadhani, Ahmad Hafiz Adi Prabowo, Irmadamayanti Siregar, dan Adinda Sabina yang telah memberikan banyak semangat dan dorongan selama saya menulis skripsi ini.
9. Terimakasih untuk grup belajar saya UMSU SEHAT yang telah banyak membantu selama pendidikan.
10. Teman sejawat, angkatan 2021 yang telah menjadi bagian dari perjalanan saya dalam menempuh pendidikan
11. Terimakasih untuk organisasi saya IMM, SEMA dan DPM yang membantu membentuk saya sekarang
12. Terimakasih adik asuh saya yang telah menjadi inspirasi dan pengingat bahwa perjuangan ini tidak hanya tentang diri sendiri, tetapi juga untuk membuka jalan bagi generasi berikutnya.
13. Pihak lain yang telah membantu dalam usaha melakukan penelitian, memberikan dukungan moral, dan bantuan yang tidak dapat disebutkan satu per satu
14. *Last but not least, I wanna thank me I wanna thank me for believing in me, I wanna thank me for doing all this hard work I wanna thank me for having no days off. I wanna thank me for never quitting I wanna thank me for always being a giver and tryna give more than I receive. I wanna thank me for tryna do more right than wrong I wanna thank me for just being me at all times.s*

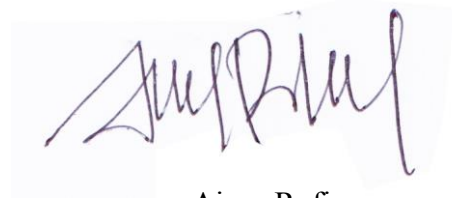
Dengan ini, diharapkan bahwa skripsi ini dapat memberikan dampak positif dan kontribusi yang berarti bagi kemajuan ilmu pengetahuan dan masyarakat. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh sebab itu, dengan segala kerendahan hati, kekurangan dan kesalahan yang terdapat

dalam skripsi ini, penulis mengharapkan kritik dan saran agar penulis dapat menyempurnakan skripsi ini.

Demikianlah kata pengantar ini saya sampaikan. Dengan penuh harap dan doa, saya menyampaikan kata pengantar ini, semoga Allah SWT senantiasa memberikan rahmat dan hidayah-Nya kepada kita semua. Aamiin.

Medan, 7 Februari 2025

Penulis,



Ainur Rofiq

PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

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

Nama : Ainur Rofiq
NPM : 2108260045
Fakultas : Fakultas Kedokteran

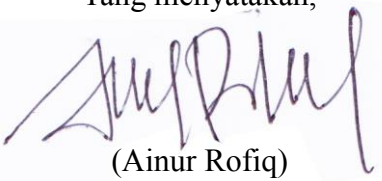
Saya telah setuju untuk memberikan Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara Hak Bebas Royalti Non Eksklusif atas skripsi saya yang berjudul **“STUDI INTERAKSI MOLEKULER MELALUI *MOLECULAR DOCKING* SENYAWA *CEMBRANOID-TIPE DITERPENE* DARI DAUN TEMBAKAU (*Nicotiana tabacum L.*) DENGAN MUTASI GEN PADA KANKER PARU”** dalam upaya mengembangkan ilmu pengetahuan.

Dengan Hak Bebas Royalti Non Eksklusif ini, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara berhak menyimpan, mengalih media, mengorganisasikan dalam bentuk pangkalan data, merawat, dan mempublikasikan karya saya selama tetap menunjukkan nama saya sebagai penulis atau pencipta dan pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Medan
Pada Tanggal : 7 Februari 2025

Yang menyatakan,



(Ainur Rofiq)

ABSTRAK

Salah satu penyebab kanker paru-paru adalah perubahan genetik pada gen V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog (KRAS) yang terlibat dalam jalur pensinyalan yang terkait dengan proliferasi, diferensiasi sel, dan apoptosis. Mutasi titik pada gen KRAS terdeteksi pada 15% hingga 20% dari semua Karsinoma Paru-paru Non-Sel Kecil (NSCLC) dan sekitar 30% adenokarsinoma paru-paru, dengan mutasi yang paling umum berada pada kodon 12. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui reaksi pengikatan antara senyawa cembranoid tipe diterpene dari daun tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) dan KRAS pada kanker paru-paru manusia. Kami menemukan adanya senyawa aktif diterpene tipe cembranoid berupa thunbergol (C₂₀H₃₄O) dengan pemeriksaan Gas Chromatography and Mass Spectroscopy (GC-MS). Berdasarkan hasil molecular docking, ditemukan bahwa ligan cembranoid tipe diterpene berikatan dengan reseptor KRAS dengan hasil $G -7,0$ kkal/mol, pK_i 7,35 M, 1 ikatan hidrogen dengan tipe ILE36 (1.937 Angstrom). Kesimpulannya, cembranoid tipe diterpene dapat dianggap sebagai senyawa anti-kanker karena interaksi molekuler dengan diterpene tipe cembranoid melalui proliferasi sel dan jalur diferensiasi serta apoptosis.

Kata kunci: diterpen tipe cembranoid, dalam silico, KRAS, kanker paru-paru, mekanisme kerja

ABSTRACT

*One of the causes of lung cancer is genetic alterations in the gene V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homologous (KRAS) which is involved in signaling pathways related to proliferation, cell differentiation, and apoptosis. Point mutations in the KRAS gene are detected in 15% to 20% of all Non-Small Cell Lung Carcinoma (NSCLC) and about 30% of lung adenocarcinomas, with the most common mutation being in codon 12. This study aims to determine the binding reaction between cembranoid-type diterpene compounds from tobacco leaves (*Nicotiana tabacum* L.) and KRAS in human lung cancer. We found the presence of an active compound of cembranoid-type diterpene in the form of thunbergol (C₂₀H₃₄O) by gas chromatography and mass spectroscopy (GC-MS). Based on the results of molecular docking, it was found that the cembranoid-type diterpene ligand binds to the KRAS receptor with a result of G -7.0 kcal/mol, pKi 7.35 M, 1 hydrogen bond with type ILE36 (1,937 Angstrom). In conclusion, cembranoid-type diterpenes can be considered as anti-cancer compounds due to their molecular interactions with cembranoid-type diterpenes through cell proliferation and differentiation pathways and apoptosis.*

Keywords: *cembranoid-type diterpenes, in silico, KRAS, lung cancer, mechanism of action*

DAFTAR ISI

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
HALAMAN PENGESAHAN	Error! Bookmark not defined.
KATA PENGANTAR	iii
PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS	vii
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus.....	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
1.4.1 Bagi Peneliti	4
1.4.2 Bagi Penelitian dan Pendidikan.....	4
1.4.3 Bagi Masyarakat.....	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Tembakau (<i>Nicotiana tabacum L.</i>).....	6
2.1.1 Tumbuhan Tembakau (<i>Nicotiana taabacum L.</i>).....	6
2.1.2 Ekstrak Tembakau.....	7
2.2 Kanker Paru	7

2.2.1 Definisi Kanker Paru.....	7
2.2.2 Epidemiologi Kanker Paru.....	7
2.2.3 Faktor Risiko Kanker Paru.....	8
2.2.4 Terapi Kanker Paru.....	8
2.3 Mutasi Gen pada Kanker Paru	9
2.3.1. Mutasi gen V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogen homolog (<i>KRAS</i>).....	9
2.3.2. Mutasi gen Epidermal Growth Factor Receptor (<i>EGFR</i>).....	9
2.3.3. Mutasi gen Anaplastic Lymphoma Kinase (<i>ALK</i>)	9
2.4 Kinerja <i>Cembranoid</i> dalam Meghambat Mutasi Gen pada Kanker Paru.....	10
2.5 <i>Molecular Docking (In Silico)</i>	10
2.5.1 Dasar <i>Molecular docking</i>	10
2.5.2 Model <i>Molecular docking</i>	12
2.6 Hipotesis.....	13
2.6 Kerangka Teori.....	14
2.7 Kerangka Konsep	14
BAB 3 METODE PENELITIAN	15
3.1 Definisi Operasional.....	15
3.2 Jenis Penelitian.....	16
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian	16
3.4 Bahan dan Alat yang digunakan.....	17
3.5 Tahapan Riset yang akan dilaksanakan.....	17
3.5.1. Persiapan ekstrak.....	17
3.5.2. Analisis <i>GC-MS</i>	17
3.5.3. Analisis FTIR.....	17
3.5.4. Analisis <i>in silico</i>	18
3.5. Prosedur Riset	18

3.5.1. Pencarian asam amino penyusun protein target.....	18
3.5.2. Pencarian struktur senyawa aktif <i>cembranoid</i> dari <i>Nicotiana tabacum L.</i>	18
3.5.3. Pemodelan struktur 3D protein	18
3.5.4. <i>Docking</i> dan visualisasi antara <i>protein-ligand</i>	18
3.5.5. Analisis interaksi ikatan antara protein dengan <i>ligand</i>	19
3.6 Pengolahan dan Analisis Data	19
3.6.1. Pengolahan Data.....	19
3.6.2. Analisis Data	20
3.7 Alur Penelitian	20
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	21
4.1 Hasil	21
4.1.1 Hasil Uji Daun Tembakau	21
4.1.2 Hasil Analisis <i>FTIR</i>	21
4.1.3 Hasil Analisis <i>GC-MS</i>	22
4.1.4 Hasil <i>In Silico (Docking)</i>	23
4.2 Pembahasan.....	25
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	27
5.1 Kesimpulan	27
5.2 Saran.....	27
DAFTAR PUSTAKA	29
LAMPIRAN	31

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Tumbuhan Tembakau	6
Gambar 2. 2 Gambaran umum molecular docking (A) Struktur 3D dari ligan; (B) Struktur 3D dari reseptor; (C) Ligan didocking ke dalam celah atau sisi aktif reseptor; (D) Konformasi ikatan dan interaksi antar molekul yang sesuai diidentifikasi. Ligan (karbon berwarna. ²²	11
Gambar 2. 3 The lock and key theory. ²³	12
Gambar 2. 4 Induced fit theory	12
Gambar 2. 5 Kerangka Teori	14
Gambar 2. 6 Kerangka Konsep	14
Gambar 3. 1 Alur Penelitian.....	20
Gambar 4. 1 Spektrum Gugus Fungs Ekstrak Daun Tembakau.....	22
Gambar 4. 2 Spektrum Gugus Fungs Ekstrak Daun Tembakau.....	22

DAFTAR TABEL

Tabel 3. 1 Definisi Operasional.....	15
Tabel 4. 1 Hasil parameter simplisia dan organoleptik ekstrak.....	21
Tabel 4. 2 Protein mutan target pada kanker paru manusia	23
Tabel 4. 3 Docking antara reseptor dengan ligan	24

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Data Hasil Karakterisasi	31
Lampiran 2 <i>FTIR</i> Ekstrak Daun Tembakau.....	32
Lampiran 3 Surat Identifikasi Tanaman	33
Lampiran 4 Surat Ijin Penelitian dari Komisi Etik.....	34
Lampiran 5 Surat Ijin Penelitian dari Laboratorium Mega Global Safety Indonesia	35
Lampiran 6 Identifikasi Komponen Kualitatif Daun Tembakau	36
Lampiran 7 Daftar Riwayat Hidup	38
Lampiran 8 Aritikel Ilmiah.....	39

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Menurut *World Cancer Research Fund International* tahun 2020 angka kasus baru kanker paru mencapai 2,2 juta (12,2%) dari seluruh kasus kanker dan menempati posisi kedua sebagai keganasan yang paling sering terjadi.¹ Di Indonesia menurut data Globocan 2020, kanker paru merupakan kanker dengan angka kematian paling tinggi ketiga setelah kanker payudara dan serviks dengan jumlah 30.843 kasus.²

Kanker paru disebabkan oleh karena tidak terkendalinya pertumbuhan sel dalam jaringan paru, terutama pada sel-sel yang melapisi saluran pernapasan. Paparan kumulatif terhadap tar yang dikandung oleh rokok tembakau menjadi komponen utama penyebab kanker paru.³ *The International Agency for Research on Cancer* mengidentifikasi paling sedikit 50 karsinogen dan lebih dari 4000 konstituen dalam asap tembakau.¹ Faktor risiko lain juga banyak terlibat termasuk pewarisan genetika.³

Efek paparan rokok tembakau pada sitologi sel epitel saluran napas normal dapat menyebabkan penyimpangan molekuler luas pada saluran napas yang menunjukkan area cedera yang berkaitan dengan onkogenesis paru.⁴ Perubahan molekuler yang dapat ditemukan diantaranya adalah perubahan genetik (mutasi), variasi *copy number* dan metilasi *Deoxyribonucleic Acid (DNA)* pada epitel saluran napas.⁴

Mutasi gen yang paling umum ditemukan pada kanker paru melibatkan gen V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog (*KRAS*), Epidermal Growth Factor Receptor (*EGFR*), anaplastic lymphoma kinase (*ALK*), phosphoinositide-3-kinase, catalytic, alpha polypeptide (*PIK3CA*), v-Raf murine sarcoma viral oncogene homolog B1 (*BRAF*), serta human epidermal. Produk gen yang mengalami perubahan ini berperan dalam jalur pensinyalan yang berkaitan dengan proliferasi, diferensiasi sel, dan apoptosis.⁵

Mutasi ini terutama *KRAS*, *EGFR* dan *ALK* menyebabkan kanker menjadi resisten terhadap terapi personal standar yang biasa diberikan pada penderita

kanker yaitu *tyrosine kinase inhibitors (TKIs)* tertarget susunan genetik individu, termasuk juga resisten terhadap terapi konvensional kemoterapi dan radiasi. Metode konvensional ini tidak spesifik untuk sel kanker dan malah menyerang sel normal selain sel kanker yang ada. Pengobatan yang tidak adekuat dan timbulnya resistensi menyebabkan angka prognosis yang jelek dan tingkat kematian pasien kanker paru juga semakin meningkat.⁶ 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 murni (*Nicotiana tabacum L.*) yang tergolong dalam tanaman perkebunan, dan dihubungkan sebagai penyebab kanker paru diangkat sebagai ide penelitian yang digunakan sekaligus sebagai terapi penyembuhan penyakit ini. Sepengetahuan peneliti, penelitian ini merupakan studi pertama tentang beberapa mutasi gen (*KRAS*, *EGFR* dan *ALK*) yang terlibat pada kanker paru

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 neuroprotektif.⁷

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*⁷, tetapi untuk terapi adjuvan kanker paru sendiri belum ditemukan referensi yang mendukung terutama dalam kaitannya dengan mutasi gen *KRAS*, *EGFR* dan *ALK*.

Oleh karena itu, dilakukan penelitian untuk menginvestigasi potensi senyawa cembranoid type-diterpene dari daun tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) sebagai antikanker melalui target protein *KRAS*, *EGFR* dan *ALK* dan memahami

mekanisme kerja antikanker sehingga dapat diaplikasikan dalam terapi klinis di masa depan

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah senyawa *Cembranoid* terdapat di daun tembakau ?
2. Apakah mutase gen *KRAS*, *EGFR* dan *ALK* berhubungan dengan kejadian kanker paru ?
3. Bagaimana interaksi (*molecular docking*) antara senyawa golongan *Cembranoid* terhadap protein *KRAS*, *EGFR* dan *ALK* ?
4. Apakah *Cembranoid* dari daun tembakau dapat dipakai sebagai pengobatan kanker paru ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Menjelajahi potensi senyawa cembranoid dari daun tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) sebagai kandidat terapi kanker paru melalui analisis karakterisasi senyawa, mekanisme mutasi gen, serta interaksi molekuler terhadap protein target yang relevan

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Menganalisis karakterisasi senyawa *Cembranoid* dari daun tembakau.
2. Mempelajari mekanisme mutasi gen *KRAS*, *EGFR*, dan *ALK*.
3. Mengevaluasi mekanisme interaksi (*docking molekuler*) antara senyawa golongan *Cembranoid* terhadap protein *KRAS*, *EGFR*, dan *ALK*.
4. Menganalisis potensi *Cembranoid* dari daun tembakau sebagai salah satu kandidat terapi kanker paru.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian adalah terungkapnya senyawa golongan cembranoud dari daun tembakau serta peranannya sebagai antikanker paru tertarget protein *KRAS*, *EGFR* dan *ALK*. Berdasarkan temuan ini akan terdapat pijakan penelitian selanjutnya yang mengarah kepada penemuan antikanker bersumber berbahan dasar tembakau murni

1.4.1 Bagi Peneliti

Manfaat penelitian ini bagi peneliti adalah untuk meningkatkan pemahaman mendalam mengenai karakterisasi senyawa *cembranoid* dari daun tembakau serta potensinya sebagai agen terapeutik untuk kanker paru. Peneliti dapat memperluas wawasan terkait mekanisme mutasi gen *KRAS*, *EGFR*, dan *ALK* yang berperan penting dalam perkembangan kanker paru. Selain itu, penelitian ini memberikan pengalaman dalam mengevaluasi interaksi molekuler melalui metode docking, yang merupakan pendekatan inovatif dalam desain obat berbasis molekul. Dengan demikian, penelitian ini tidak hanya memperkaya pengetahuan ilmiah, tetapi juga memberikan keterampilan teknis yang aplikatif dalam bidang bioteknologi dan pengembangan terapi kanker.

1.4.2 Bagi Penelitian dan Pendidikan

Manfaat penelitian ini bagi bidang penelitian dan pendidikan sangat signifikan, khususnya dalam memperluas wawasan mengenai karakterisasi senyawa *cembranoid* dari daun tembakau dan potensinya sebagai kandidat terapi kanker paru. Penelitian ini memberikan kontribusi ilmiah terhadap pemahaman mekanisme mutasi gen *KRAS*, *EGFR*, dan *ALK* serta interaksi molekuler senyawa bioaktif dengan protein target, yang dapat menjadi dasar untuk pengembangan obat berbasis senyawa alami. Selain itu, dalam bidang pendidikan, penelitian ini dapat digunakan sebagai sumber pembelajaran untuk mahasiswa dan akademisi, membantu memahami aplikasi bioteknologi, metode analisis molekuler, serta pendekatan desain obat, sehingga mampu meningkatkan kapasitas generasi mendatang dalam penelitian dan inovasi di bidang farmakologi dan onkologi molekuler.

1.4.3 Bagi Masyarakat

Manfaat penelitian ini bagi masyarakat terletak pada potensi penerapan senyawa *cembranoid* dari daun tembakau sebagai terapi alternatif untuk kanker paru, yang dapat membuka peluang bagi pengembangan pengobatan baru yang lebih efektif dan terjangkau. Selain itu, penelitian ini berpotensi meningkatkan kesadaran masyarakat tentang pentingnya penelitian terhadap tanaman lokal sebagai sumber obat alami yang dapat dimanfaatkan untuk pengobatan kanker.

Dengan ditemukannya senyawa yang berpotensi mengatasi masalah kesehatan yang signifikan, seperti kanker paru, masyarakat dapat memperoleh manfaat langsung berupa pilihan pengobatan yang lebih beragam dan mungkin lebih aman, serta meningkatkan kualitas hidup pasien kanker.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tembakau (*Nicotiana tabacum L.*)

2.1.1 Tumbuhan Tembakau (*Nicotiana taabacum L.*)

Tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) adalah tanaman yang termasuk dalam keluarga Solanaceae dan memiliki ciri morfologi khas.⁸ Batangnya tegak, berbentuk silindris, dan biasanya berwarna hijau dengan permukaan yang sedikit berbulu. Daun tembakau berwarna hijau, berbentuk oval hingga lonjong, dengan ukuran yang bervariasi tergantung varietasnya, serta memiliki tepi yang licin atau sedikit bergelombang. Permukaan daun sering kali dilapisi bulu halus dan mengandung banyak kelenjar yang menghasilkan resin.⁸



Sumber :<https://www.istockphoto.com/id/foto/buka-ladang-kedelai-saat-matahari-terbenam-ladang-kedelai-gm1200736399-344057091>

Gambar 2. 1 Tumbuhan Tembakau

Bunga tembakau tersusun dalam bentuk malai (*inflorescence*) di bagian ujung batang, dengan kelopak berbentuk corong dan warna mahkota yang bervariasi antara merah muda hingga putih kekuningan.⁹ Buahnya berbentuk kapsul yang mengandung banyak biji kecil berwarna coklat kehitaman. Sistem perakaran tembakau berupa akar tunggang yang tumbuh dalam-dalam dan akar

lateral yang menyebar ke samping. Tanaman ini memiliki karakteristik morfologi yang mendukung adaptasinya di berbagai jenis lahan.⁹

2.1.2 Ekstrak Tembakau

Tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) mengandung berbagai senyawa bioaktif seperti *flavonoid*, *ALKaloid*, *polifenol*, dan *terpenoid* (termasuk *cembranoid*). *Flavonoid* seperti *quercetin*, *kaempferol*, dan rutin berperan sebagai antioksidan, anti-inflamasi, dan antikanker.¹⁰ *ALKaloid* seperti nikotin, *anatabine*, dan *nornikotin* memiliki efek neurostimulasi, antimikroba, dan imunomodulasi. Polifenol, termasuk asam klorogenat dan asam kafeat, berkontribusi sebagai antioksidan dan agen anti-inflamasi.¹⁰ *Terpenoid*, khususnya *cembranoid* seperti *4R-cembranoid* dan *α -cembranolide*, menunjukkan potensi antikanker, antibakteri, dan neuroprotektif, yang sebagian besar ditemukan dalam resin tembakau.¹¹ Kombinasi senyawa-senyawa ini menjadikan tembakau menarik untuk penelitian di bidang farmasi dan bioteknologi.

2.2 Kanker Paru

2.2.1 Definisi Kanker Paru

Kanker paru merupakan neoplasma ganas yang berasal dari saluran udara atau bronkus, baik dari paru sendiri (primer) dan metastasis tumor ke paru.¹² Faktor risiko terjadinya kanker paru harus menjadi perhatian dan dihindarkan seperti paparan asap rokok, penggunaan rokok elektronik dan produk tembakau lain seperti pipa, cerutu, dan *hookah*, *cannabis*, paparan radon, lingkungan, gaya hidup, riwayat penyakit non infeksi dan infeksi yang melibatkan saluran pernapasan, *Human Immunodeficiency Virus (HIV)*, serta pewarisan genetika.³

2.2.2 Epidemiologi Kanker Paru

American Cancer Society (ACS) memperkirakan 135.720 kematian akibat kanker paru akan terjadi di Amerika Serikat pada tahun 2020. Sebagian besar pasien tidak terdiagnosis sampai timbul gejala dan sering ditemukan pada stadium lanjut (III atau IV), dengan tingkat kelangsungan hidup 5 tahun masing-masing sebesar 16% dan 4%.¹³

2.2.3 Faktor Risiko Kanker Paru

Kanker paru-paru memiliki berbagai faktor risiko yang telah diidentifikasi dalam penelitian terbaru. Selain kebiasaan merokok, paparan terhadap zat karsinogenik seperti asbes, silika, logam berat, dan hidrokarbon aromatik polisiklik juga meningkatkan risiko terjadinya kanker paru.^{14,15} Paparan gas radon, gas radioaktif alami yang dihasilkan dari pemecahan uranium di tanah dan batuan, juga merupakan faktor risiko signifikan. Polusi udara, terutama di daerah perkotaan dengan tingkat polusi tinggi, telah dikaitkan dengan peningkatan insiden kanker paru.¹⁵ Faktor demografis seperti usia di atas 50 tahun dan jenis kelamin laki-laki, yang sering dikaitkan dengan prevalensi merokok yang lebih tinggi, juga berperan dalam meningkatkan risiko.¹⁴ Selain itu, riwayat penyakit paru kronis dan infeksi paru dapat berkontribusi sebagai faktor risiko tambahan.

2.2.4 Terapi Kanker Paru

Kemajuan terbaru dalam terapi kanker paru-paru telah memperkenalkan beberapa pendekatan yang menjanjikan. Terapi yang ditargetkan, seperti lorlatinib dan selpercatinib, telah menunjukkan peningkatan kemanjuran dalam mengobati mutasi genetik tertentu seperti perubahan *ALK* dan *RET* pada kanker paru-paru non-sel kecil (NSCLC), menawarkan hasil yang lebih baik dan mencegah metastasis. Imunoterapi dengan inhibitor titik pemeriksaan imun, seperti inhibitor PD-1 dan PD-L1, telah secara signifikan meningkatkan tingkat kelangsungan hidup dengan meningkatkan kemampuan sistem imun untuk menyerang sel-sel kanker.^{16,17} Lebih jauh lagi, terapi neoadjuvant mendapatkan daya tarik sebagai perawatan pra-bedah untuk mengecilkan tumor dan meningkatkan efektivitas pembedahan. Selain itu, pengobatan yang dipersonalisasi, dipandu oleh profil genomik, memungkinkan strategi pengobatan yang disesuaikan berdasarkan susunan genetik unik dari tumor setiap pasien, yang mengarah pada terapi yang lebih terarah dan efektif. Inovasi-inovasi ini merupakan lompatan maju yang signifikan dalam meningkatkan prognosis dan pilihan pengobatan untuk pasien kanker paru-paru.^{16,17}

2.3 Mutasi Gen pada Kanker Paru

Mutasi gen adalah perubahan yang terjadi pada materi genetik di dalam sel, berupa perubahan susunan gen (*DNA*) atau perubahan struktur dan jumlah kromosom sehingga menyebabkan perubahan sifat yang dibutuhkan.¹⁸

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

Mayoritas *KRAS* melibatkan kodon 12 atau 13 dan biasanya terkait dengan riwayat penggunaan tembakau. Frekuensi mutasi *KRAS* bervariasi antar kelompok etnis dimana jarang pada Asia dan tersering pada Afrika Amerika. Dalam penelitian terkini, mutasi *KRAS* terdeteksi pada proporsi pasien *NSCLC* yang tidak merokok, dengan insiden hingga 15%. Mutasi *KRAS* dapat menjadi biomarker prediktor prognostik pada *NSCLC* yang terkait dengan insiden tinggi mutasi *EGFR* sehingga menandakan buruknya prognosis.⁵

2.3.2. Mutasi gen Epidermal Growth Factor Receptor (*EGFR*)

Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) adalah reseptor pada permukaan sel yang berperan dalam pertumbuhan sel dan proses apoptosis sel. Mutasi gen *EGFR* akan menyebabkan terjadinya aktivitas berlebihan pada sel yang akan menyebabkan tumor. Dalam teori disebutkan bahwa mutasi gen *EGFR* umumnya terjadi pada pasien penderita adenokarsinoma dari etnik Asia. Mutasi predominan ditemukan di lokasi gen *EGFR* ekson 19 dan 21, sekitar 85% mutasi *EGFR* adalah delesi di ekson 19 atau mutasi ekson 21 L858. Jenis mutasi *EGFR* tidak sama dalam memberikan respons terhadap *EGFR tyrosine kinase inhibitor*.¹⁸

2.3.3. Mutasi gen Anaplastic Lymphoma Kinase (*ALK*)

Patogenesis kanker paru akibat mutasi gen *ALK* adalah meningkatkan pertumbuhan/proliferasi sel dan menghambat apoptosis di awal. *Rearrangement ALK* pada kanker paru sangat terkait dengan histologi adenokarsinoma, khususnya dengan asinar dan/atau pola pertumbuhan solid atau dengan gambaran seluler *signet ring cell carcinoma*. Meskipun fusi *ALK* umum terjadi pada

limfoma sel besar anaplastik dan tumor miofibroblastik inflamasi, fusi *EML4-ALK* spesifik hampir secara eksklusif ditemukan pada kanker paru⁵.

2.4 Kinerja *Cembranoid* dalam Meghambat Mutasi Gen pada Kanker Paru

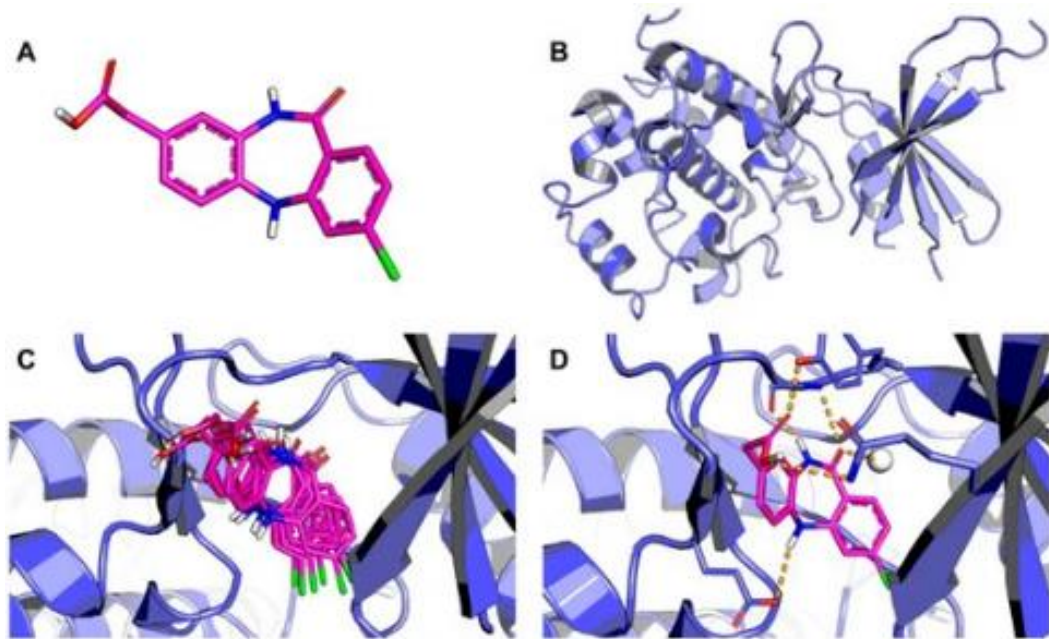
Cembranoid adalah senyawa terpenoid yang menunjukkan aktivitas antikanker melalui berbagai mekanisme. Salah satunya adalah induksi apoptosis, yaitu proses kematian sel terprogram yang esensial untuk menghilangkan sel-sel kanker.¹¹ *Cembranoid* dapat memicu jalur apoptosis intrinsik dengan meningkatkan permeabilitas membran mitokondria, yang mengarah pada pelepasan sitokrom c dan aktivasi kaspase, enzim yang berperan dalam pemecahan komponen seluler.¹⁹ Selain itu, *cembranoid* juga mampu menghambat proliferasi sel kanker dengan menekan siklus sel pada fase tertentu, sehingga mencegah pembelahan dan pertumbuhan sel kanker lebih lanjut.¹⁹ Mekanisme lain yang dilaporkan adalah penghambatan angiogenesis, proses pembentukan pembuluh darah baru yang diperlukan untuk suplai nutrisi pada tumor; dengan menghambat angiogenesis, *cembranoid* membatasi pertumbuhan dan penyebaran tumor. Beberapa studi juga menunjukkan bahwa *cembranoid* memiliki aktivitas antioksidan, yang membantu melindungi sel normal dari kerusakan oksidatif dan mengurangi risiko transformasi sel normal menjadi sel kanker.¹⁹ Secara keseluruhan, *cembranoid* bekerja melalui kombinasi mekanisme ini untuk menekan perkembangan dan penyebaran sel kanker.

2.5 *Molecular Docking (In Silico)*

2.5.1 Dasar *Molecular docking*

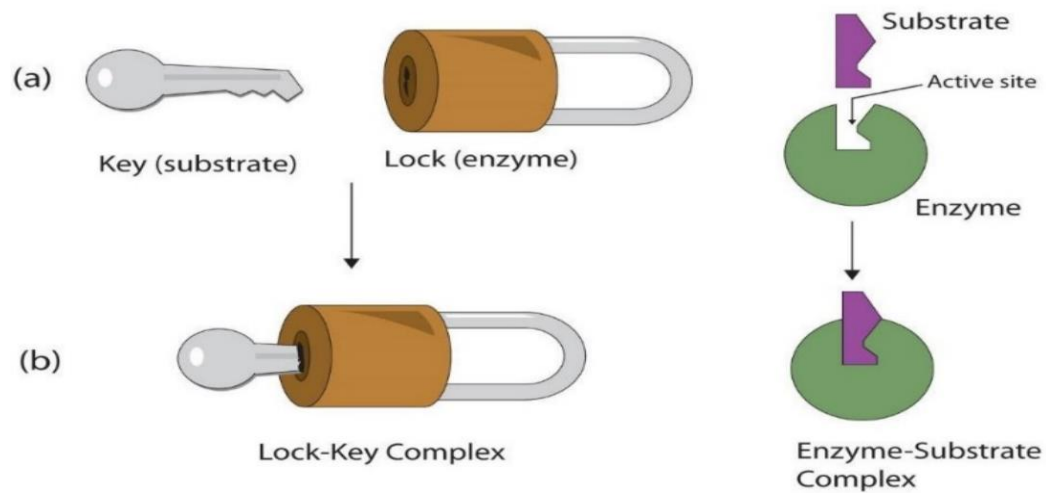
Molecular docking atau lebih sering dikenal dengan *in silico* adalah pemodelan ikatan dan afinitas antara senyawa (ligan) dengan molekul yang lebih besar seperti protein atau enzim menggunakan teknik komputerisasi. Pada saat ini teknologi ini sangat berkembang dan banyak digunakan dalam desain obat. Menggunakan basis data yang sudah tersedia memudahkan peneliti untuk mencari terapi potensial dengan efisien tanpa biaya berlebih.²⁰ Saat ini, metode *molecular docking* banyak diterapkan dalam penelitian biologi, penemuan obat, dan berbagai bidang lainnya. Metode ini digunakan tidak hanya untuk menemukan molekul baru yang dapat mengikat protein dan asam nukleat, tetapi juga untuk berbagai

tujuan lainnya. Misalnya, docking dapat membantu mengungkap bagaimana ligan (molekul yang diketahui dapat mengikat target biologis tertentu) mempengaruhi fungsi target tersebut secara struktural. Selain itu, docking juga sering digunakan untuk optimasi ligan yang lebih efisien, sebuah langkah penting dalam penemuan obat, di mana ligan yang ada digunakan untuk mencari senyawa terkait dengan sifat yang lebih diinginkan seperti ikatan yang lebih kuat, efektivitas yang lebih tinggi, toksisitas yang lebih rendah, dan efek samping yang lebih sedikit.²¹



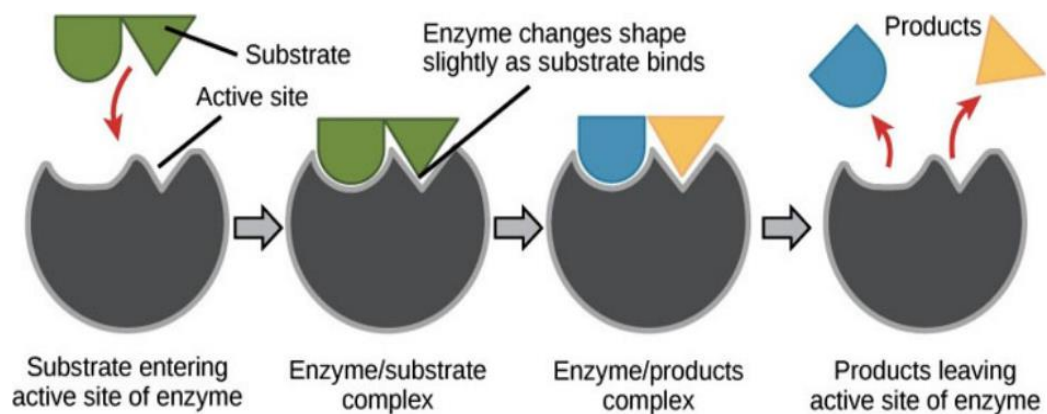
Gambar 2. 2 Gambaran umum *molecular docking* (A) Struktur 3D dari ligan; (B) Struktur 3D dari reseptor; (C) Ligan didocking ke dalam celah atau sisi aktif reseptor; (D) Konformasi ikatan dan interaksi antar molekul yang sesuai diidentifikasi. Ligan (karbon berwarna).²²

2.5.2 Model *Molecular docking*



Gambar 2. 3 The lock and key theory.²³

Teori "*lock and key*" adalah teori awal mengenai mekanisme ikatan antara enzim dan substrat, serta molekul lain dalam sistem biologis. Teori ini awalnya ditemukan oleh Emil Fischer pada tahun 1890, seperti terlihat pada gambar 5.²⁴ konsep ini digambarkan bahwa substrat atau ligan digambarkan seperti anak kunci, sedangkan enzim atau reseptor seperti gembok yang menggambarkan bahwa interaksi hanya akan terjadi apabila keduanya memiliki bentuk yang spesifik.²³ kemudian dikembangkanlah teori baru yaitu *induced fit*



Gambar 2. 4 induced fit theory

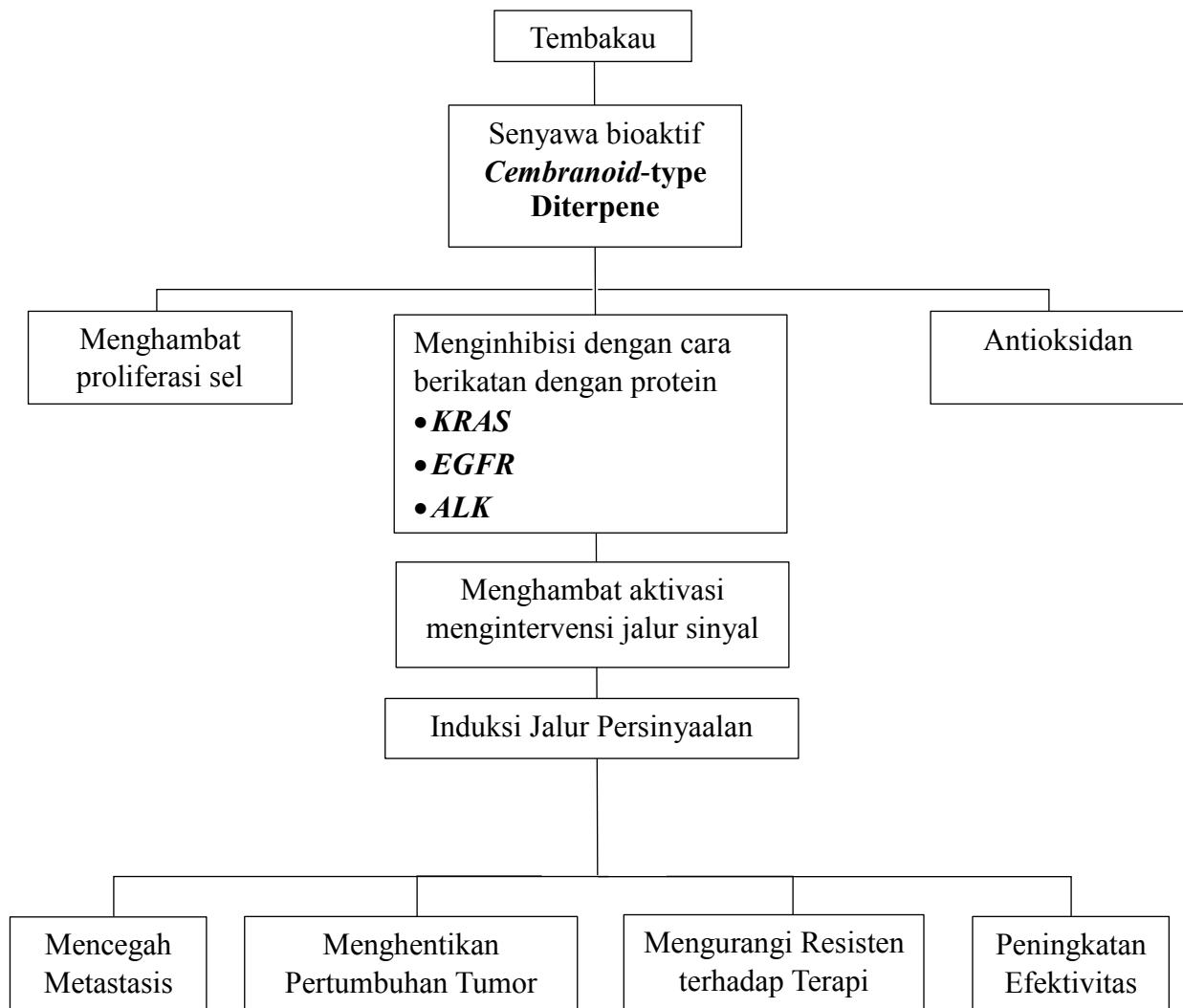
Konsep *induced fit* dinilai lebih mencerminkan dinamika biologis yang realistis. Teori ini ditemukan oleh Daniel E. Koshland sebagai penyempurnaan dari teori

lock and key pada tahun 1958.²⁵ Model *induced fit* baik enzim sebagai reseptor atau substrat sebagai ligan tidak bersifat kaku. Tetapi bersifat fleksibel sehingga dapat menyesuaikan dalam proses interaksi. hal ini membuat interaksi yang lebih stabil, efisien, dan spesifik, serta mencerminkan dinamika biologis yang lebih realistis.²³

2.6 Hipotesis

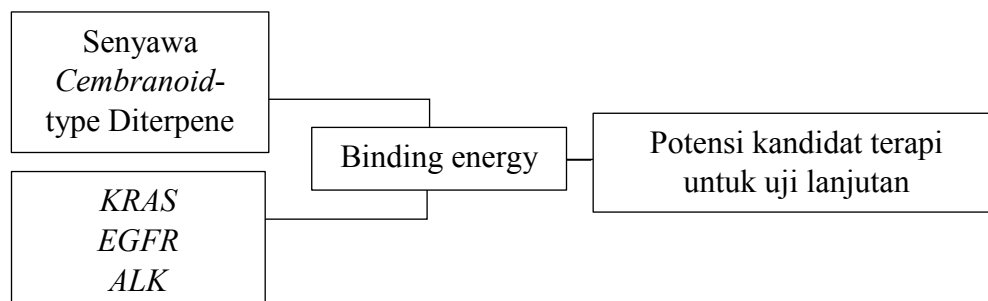
- a. H1 = Terdapat interaksi *in silico* (molecular docking) antara senyawa Cembranoid type-diterpene dari Tembakau murni (*Nicotiana tabacum L.*) terhadap mutasi gen sebagai kandidat antikanker paru.
- b. H0 = Tidak terdapat interaksi *in silico* (molecular docking) antara senyawa Cembranoid type-diterpene dari Tembakau murni (*Nicotiana tabacum L.*) terhadap mutasi gen sebagai kandidat antikanker paru.

2.6 Kerangka Teori



Gambar 2. 5 Kerangka Teori

2.7 Kerangka Konsep



Gambar 2. 6 Kerangka Konsep

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Definisi Operasional

Tabel 3. 1 Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Alat Ukur	Hasil Ukur	Skala Ukur
<i>Cembranoid-type diterpene</i>	senyawa terpenoid yang terdiri dari 20 atom karbon dan memiliki kerangka cembrane, yaitu cincin makrosiklik 14-karbon dari tembakau murni yang diperoleh dari PubChem dan diuji terhadap protein target untuk menilai potensinya sebagai kandidat antikanker	PubChem (pengambilan struktur) ADMETLab 2.0 & SwissADME (prediksi ADME & toksisitas) MarvinSketch (konversi format) AutoDockTools (preparasi docking) AutoDock Vina (simulasi docking)	<i>Binding Free Energy</i> (ΔG), <i>Inhibition Constant</i> (K_i), <i>Root Mean Square Deviation</i> (RMSD)	Rasio (ΔG , K_i , RMSD)
<i>KRAS (Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog)</i>	Adalah gen yang mengkodekan protein kecil bernama K-Ras, yang berperan dalam jalur sinyal Ras/MAPK untuk mengatur pertumbuhan dan diferensiasi sel	UniProt & PDB (pengambilan struktur) AutoDockTools (preparasi) AutoDock Vina (simulasi docking) Discovery Studio (visualisasi interaksi)	Energi ikatan (<i>binding energy</i>), konstanta inhibisi (K_i), RMSD (<i>Root Mean Square Deviation</i>)	Rasio
<i>EGFR (Epidermal Growth Factor)</i>	Adalah reseptor tirosin kinase yang berperan dalam regulasi	UniProt & PDB (pengambilan struktur)	Energi ikatan (<i>binding energy</i>), konstanta	Rasio

<i>Receptor</i>)	pertumbuhan, proliferasi, dan diferensiasi sel melalui jalur sinyal seperti <i>RAS/MAPK</i> , <i>PI3K/AKT</i> , dan <i>JAK/STAT</i> .	AutoDockTools (preparasi) AutoDock Vina (simulasi <i>docking</i>) Discovery Studio (visualisasi interaksi)	inhibisi (Ki), RMSD (<i>Root Mean Square Deviation</i>)
<i>ALK (Anaplastic Lymphoma Kinase)</i>)	Adalah gen yang mengkodekan reseptor tirosin kinase dari famili insulin yang berperan dalam perkembangan sistem saraf dan regulasi pertumbuhan sel.	UniProt & PDB (pengambilan struktur) AutoDockTools (preparasi) AutoDock Vina (simulasi <i>docking</i>) Discovery Studio (visualisasi interaksi)	Energi ikatan (<i>binding energy</i>), konstanta inhibisi (Ki), RMSD (<i>Root Mean Square Deviation</i>)

3.2 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian observasional deskriptif yang bertujuan untuk mengetahui kemampuan senyawa *cembranoid-type diterpene* terhadap *KRAS*, *EGFR* dan *ALK* sebagai potensi kandidat antikanker paru. Penelitian ini menggunakan desain rancangan *molecular docking* secara *in silico* untuk mengevaluasi interaksi senyawa *cembranoid-type diterpene* terhadap mutasi gen pada kanker paru.

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini adalah studi *in silico* yang bertujuan untuk menganalisis interaksi antara senyawa *Cembranoid-type diterpene* yang terdapat dalam daun tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) dan mutasi gen pada kanker paru. Riset ini dilaksanakan selama tiga bulan, diperkirakan antara Oktober hingga Desember 2023. Identifikasi tanaman dan senyawa flavonoid dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam serta Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara, *FTIR* dan

GC-MS di lakukan Laboratorium Mega Global Safety Indonesia sementara studi *in silico* dilakukan di Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara. Seluruh penelitian dilaksanakan dengan mematuhi protokol kesehatan yang ketat dan standar laboratorium yang berlaku.

3.4 Bahan dan Alat yang digunakan

Bahan utama yang digunakan adalah daun tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) yang didapat dari kebun pribadi yang berada di provinsi riau. Untuk studi *in silico* menggunakan *OpenBabel*, *Ramachandran plot*, *Chimera 1.6.2* dan *Discovery Studio 4.1*.

3.5 Tahapan Riset yang akan dilaksanakan

3.5.1. Persiapan ekstrak

Tembakau murni yang diperoleh selanjutnya dilakukan determinasi dan identifikasi tanaman. Dua ratus gram tepung kulit buah rambai direndam dalam 30 liter etanol 96% lalu diaduk ($\pm$ 30 menit) sampai tercampur dengan baik. Campuran tersebut kemudian didiamkan 5 malam sampai mengendap. Selanjutnya dilakukan penyaringan dengan corong *Buncher* untuk memperoleh filtrat.

3.5.2. Analisis GC-MS

Metode analisis *GC-MS* dilakukan dengan memisahkan komponen dalam sampel menggunakan kromatografi gas, di mana sampel yang telah diinjeksikan diuapkan dan dialirkan melalui kolom kromatografi yang mengandung fase stasioner. Senyawa-senyawa tersebut akan dipisahkan berdasarkan volatilitas dan interaksi dengan fase stasioner. Setelah keluar dari kolom, senyawa-senyawa tersebut dianalisis lebih lanjut menggunakan spektrometer massa, yang memecah molekul menjadi fragmen ion berdasarkan rasio massa terhadap muatan (m/z).

3.5.3. Analisis FTIR

Bekerja dengan memanfaatkan radiasi inframerah untuk mengidentifikasi gugus fungsi dalam suatu senyawa. Cara kerjanya dimulai dengan penyinaran sampel menggunakan cahaya inframerah, di mana sebagian cahaya diserap dan sebagian lainnya ditransmisikan. Setiap gugus fungsi dalam molekul akan

menyerap panjang gelombang inframerah tertentu, menghasilkan spektrum khas yang disebut spektrum FTIR.

3.5.4. Analisis *in silico*

Setelah senyawa kulit buah rambsi diidentifikasi, selanjutnya dilakukan analisis *in silico* untuk menginvestigasi *docking* molekuler dengan protein *ligand*.

3.5. Prosedur Riset

3.5.1. Pencarian asam amino penyusun protein target

Sekuens asam amino yang membentuk protein ligan diakses melalui basis data National Center for Biotechnology Information (NCBI), United States National Library of Medicine (NLM), dan National Institute of Health (NIH) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Struktur tiga dimensi dari protein ligan yang awalnya disimpan dalam format *.sdf akan diubah menjadi file berformat *.pdb menggunakan aplikasi OpenBabel.²⁶

3.5.2. Pencarian struktur senyawa aktif *cembranoid* dari *Nicotiana tabacum L.*

Struktur 3D komponen senyawa aktif kulit buah rambai (*Baccaurea motleyana* Müll.Arg.) diperoleh dari *PubChem Open Chemistry Database*. Struktur tiga dimensi dari berbagai senyawa tersebut yang awalnya dalam format .sdf, akan diubah menjadi format .pdb menggunakan perangkat lunak OpenBabel.²⁶

3.5.3. Pemodelan struktur 3D protein

Prediksi struktur tiga dimensi dari protein target dilakukan melalui webserver SWISS-MODEL dengan pendekatan *homology modelling*. Selanjutnya, validasi struktur 3D protein dilakukan menggunakan *Ramachandran plot*.²⁷

3.5.4. Docking dan visualisasi antara *protein-ligand*

Simulasi *docking* antara senyawa aktif *Baccaurea motleyana* Müll.Arg. dengan protein target dilakukan dengan menggunakan software *HEX 8.0*. Protokol *docking* terdiri atas tiga tahap visualisasi, yaitu minimisasi energi *rigid-body*, perbaikan semi-fleksibel, dan *finishing refinement* dalam solvent eksplisit.

Hasil *docking* kemudian divisualisasikan dengan *software Chimera 1.6.2* dan *Discovery Studio 4.1*.²⁸

3.5.5. Analisis interaksi ikatan antara protein dengan *ligand*

Hasil analisis docking akan divisualisasikan menggunakan perangkat lunak Discovery Studio 4.1, LigPlot+, dan LigandScout 3.1. Proses analisis interaksi antara protein dan ligan dilakukan untuk mengevaluasi jumlah serta jenis ikatan yang terbentuk, seperti ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, dan gaya van der Waals.²⁸

3.6 Pengolahan dan Analisis Data

3.6.1. Pengolahan Data

a. *Editing*

Editing adalah proses peninjauan dan perbaikan data untuk memastikan bahwa informasi yang disajikan sesuai dengan standar yang telah ditentukan, baik dari segi akurasi maupun format.

b. *Coding*

Coding adalah penugasan label atau kode pada data untuk mengklasifikasikan dan memudahkan analisis lebih lanjut, baik untuk data kualitatif maupun kuantitatif.

c. *Entry data*

Entry data mengacu pada kegiatan memasukkan informasi atau data ke dalam sistem komputer atau perangkat lunak untuk pengolahan dan analisis lebih lanjut.

d. *Cleaning*

Cleaning adalah tahap dalam pengolahan data yang bertujuan untuk mendeteksi dan menghapus kesalahan, duplikasi, atau data yang tidak relevan, sehingga dataset menjadi bersih dan siap dianalisis.

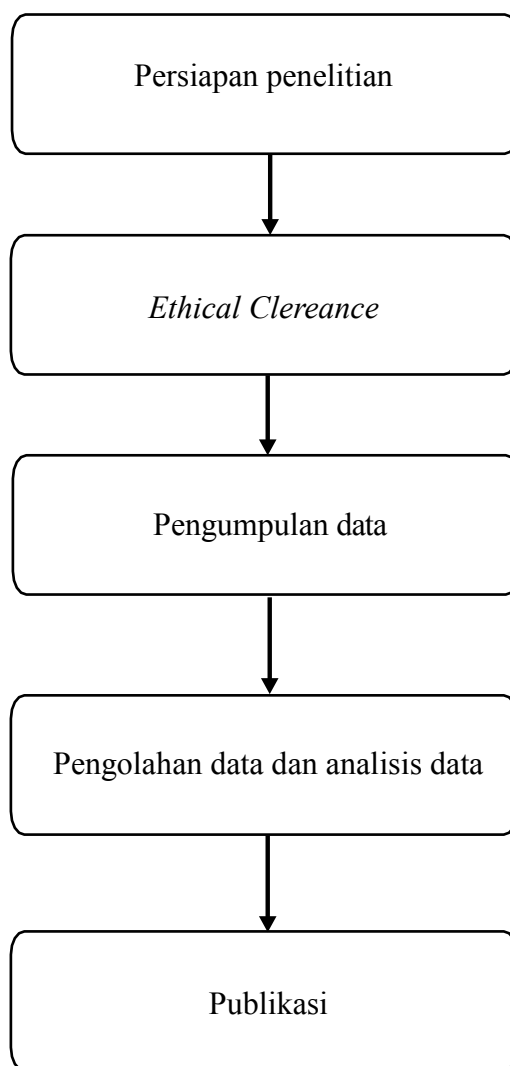
e. *Saving*

Saving adalah proses penyimpanan data dalam format yang sesuai untuk memastikan aksesibilitas dan integritas data di masa depan, baik dalam penyimpanan lokal maupun berbasis cloud

3.6.2. Analisis Data

Data hasil analisis *in silico* dievaluasi menggunakan prinsip bioinformatika untuk menilai interaksi protein-ligan berdasarkan energi bebas ikatan AutoDock (*binding free energy*, kkal/mol), dengan nilai ΔG paling negatif menunjukkan afinitas tinggi. Konstanta inhibisi (K_i , μM) dianalisis untuk menentukan potensi penghambatan, di mana nilai lebih kecil mengindikasikan efektivitas yang lebih tinggi. Stabilitas kompleks molekuler dievaluasi melalui *root-mean-square deviation* (RMSD, Å), sementara prediksi toksikologi dan parameter farmakokinetik (ADME) digunakan untuk menilai bioavailabilitas dan potensi toksisitas senyawa kandidat.

3.7 Alur Penelitian



Gambar 3. 1 Alur Penelitian

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

Riset ini telah mendapatkan ijin penelitian dari Komisi Etik FK Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara dengan No. 816/KEPK/FKUMSU/2022. Preparasi sampel dan maserasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biokimia FK UMSU. Sampel berupa ekstrak etanol 96% dikirim ke Laboratorium Mega Global Safety Indonesia untuk dilakukan analisis *FTIR* dan *GC-MS*.

4.1.1 Hasil Uji Daun Tembakau

Berikut adalah tabel hasil uji dari daun tembakau:

Tabel 4. 1 Hasil parameter simplisia dan organoleptik ekstrak

Hasil Parameter Simplisia	Hasil Organoleptik Ekstrak
Kadar air daun tembakau = 41,5 %	Ekstrak Etanol 96% serbuk daun tembakau dengan metode maserasi berbentuk kental, berwarna hijau kehitaman, rasa pahit, berbau khas

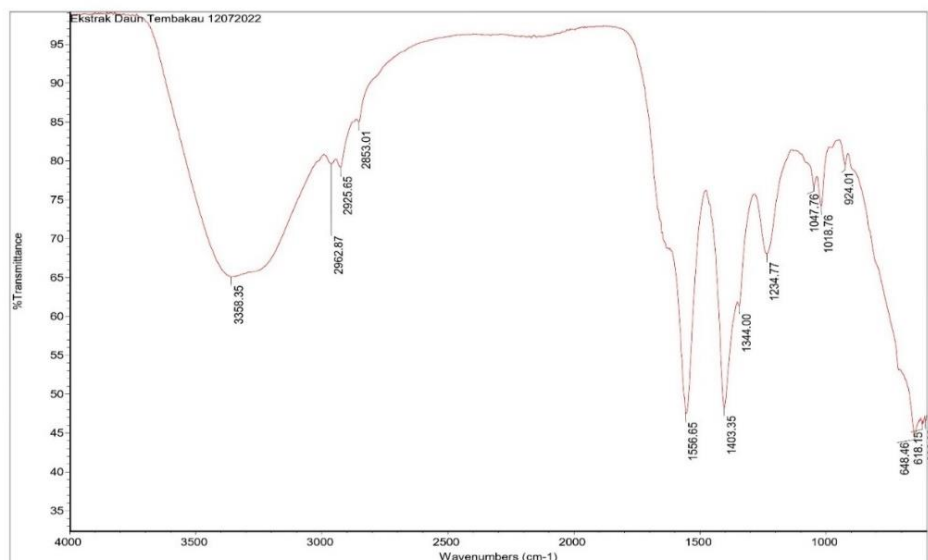
Tabel 4.2. Hasil rendemen ekstrak

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*

Analisis ini bertujuan untuk mengetahui gugus-gugus fungsi dari senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak daun tembakau. Uji dengan *FTIR* menghasilkan spektra *IR* seperti tampak pada gambar 4.1.

Gambar 4. 1 Spektrum Gugus Fungs Ekstrak Daun Tembakau



Hasil identifikasi ekstrak daun tembakau dengan menggunakan spektrofotometer IR menunjukkan adanya serapan yang khas di daerah bilangan gelombang 2962,87 cm⁻¹, 2925,65 cm⁻¹ dan 2853,01 cm⁻¹ menunjukkan adanya ikatan C – H , pada bilangan gelombang 1556,65 cm⁻¹ menunjukkan adanya gugus C=C aromatik, pada bilangan gelombang 1403,35 cm⁻¹ menunjukkan adanya gugus –CH₃ , pada bilangan gelombang 1344,00 cm⁻¹ menunjukkan adanya gugus amina tersier aromatis, pada bilangan gelombang 1018,76 cm⁻¹ menunjukkan adanya amina tersier alifatis dan adanya serapan pada bilangan gelombang 3358,35 menunjukkan adanya gugus O–H.

4.1.3 Hasil Analisis GC-MS

Senyawa aktif *cembranoid-type diterpene* didapatkan dalam bentuk *thunbergol* pada hasil GC-MS. *Cembratrienol* disebut juga dengan *thunbergol* atau *isocembrol*.

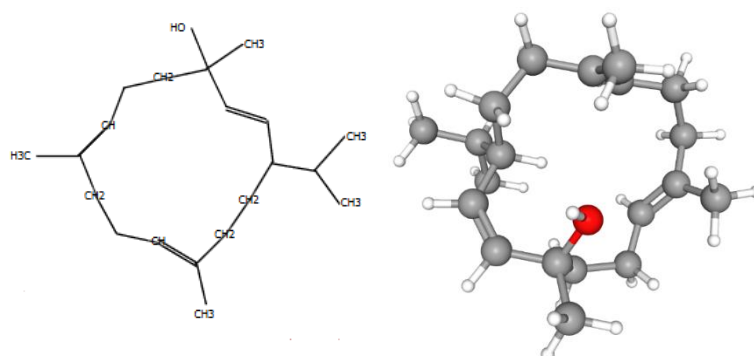
Thunbergol; Isocembrol; Q67880110; 4-Isopropyl-1,7,11-trimethyl-2,7,11-cyclotetradecatrien-1-ol; 4-Isopropyl-1,7,11-trimethyl-2,7,11-cyclotetradecatrien-1-ol #; (1R,2E,4S,7E,11E)-4-Isopropyl-1,7,11-trimethylcyclotetradeca-2,7,11-trienol

Compound CID : 5363523

MF : C₂₀H₃₄O

Molecular Weight : 290.5g/mol

IUPAC Name : (2E,7E,11E)-1,7,11-trimethyl-4-propan2ylcyclotetradeca
 2,7,11-trien-1-ol
 Isomeric SMILES : C/C1=C\CCC(/C=C/C(CC/C(=C/CC1)/C)C(C)C)(C)O
 InChIKey : YAPXSXFLHDPCK-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 *Cembranoid-type diterpene (Thunbergol)* (PubChem)

Senyawa aktif lain yang terkandung dalam daun tembakau dapat dilihat pada lampiran 6.

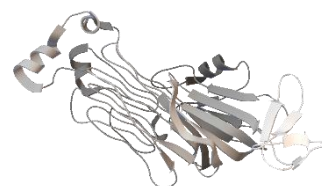
4.1.4 Hasil *In Silico* (Docking)

Berikut adalah protein target pada kanker paru manusia yang digunakan pada penelitian ini:

Tabel 4. 2 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 (Imyanitov et al., 2021)	
<i>Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR)</i>	Aktivitas berlebihan pada proliferasi sel dan apoptosis (Forsythe et al., 2020; Imyanitov et al., 2021)	

Anaplastic Lymphoma Kinase (ALK) Meningkatkan pertumbuhan/proliferasi sel dan menghambat apoptosis (Imyanitov et al., 2021)



Setelah dilakukan *docking*, terjadi interaksi antara ligan *Cembranoid-type diterpene (Thunbergol)* dengan reseptor *KRAS*, *EGFR*, dan *ALK* (Gambar 4.1 A, B dan C).



Gambar 4.3 Interaksi ligan *Cembranoid-type diterpene* dengan reseptor (A) *KRAS*, (B) *EGFR*, dan (C) *ALK*

Untuk mengetahui ligan yang paling mungkin berinteraksi dengan reseptor tertentu maka dapat berdasarkan pada prediksi energi bebas pengikatan. Semakin negatif *energy gibbs* maka semakin tinggi interaksi pengikatan antara ligan dan reseptor. Semakin kecil nilai hambatan maka semakin kuat ikatan ligan ke protein dan semakin banyak jumlah ikatan hidrogen menandakan semakin kuat ikatan ligan ke protein. Berikut merupakan hasil *docking* antara reseptor dengan ligan:

Tabel 4. 3 Docking antara reseptor dengan ligan

<i>Cembranoid-type diterpene</i>	<i>KRAS</i>	<i>EGFR</i>	<i>ALK</i>
ΔG (<i>Energi Gibbs</i>)	-7.0	-5.9	-5.06
pKi (Koefisien Hambatan)	7,35 μM	47,4 μM	194,8 μM
Jumlah ikatan hidrogen	1H $\rightarrow$ ILE36	1H $\rightarrow$	1H $\rightarrow$

(1,937 Angstrom)	LYS721	LYS894
	(1,732	(2,029
	Angstrom)	Angstrom)
	1 H →	
	MET769	
	(1,991	
	Angstrom)	

Dari hasil tabel ini dapat dilihat bahwa *KRAS* memiliki ΔG yang paling negatif ketika berinteraksi dengan ligan *Cembranoid-type diterpene*, dibandingkan dengan *EGFR* dan *ALK*. Nilai koefisien hambatan terkecil dijumpai pada reseptor *KRAS*, sedangkan *EGFR* memiliki 2 ikatan hidrogen (lebih banyak dibandingkan *KRAS* dan *ALK*). Dapat disimpulkan bahwa *KRAS* memiliki potensi paling besar untuk bereaksi dengan *Cembranoid-type diterpene* berdasarkan ΔG yang paling negatif dan nilai koefisien hambatan terkecil.

4.2 Pembahasan

Hasil yang diperoleh dari berbagai proses yang telah dilakukan menunjukkan temuan yang sangat beragam dan memberikan wawasan penting mengenai potensi senyawa aktif dari daun tembakau. Berdasarkan hasil identifikasi ekstrak daun tembakau menggunakan spektrofotometer inframerah (IR), ditemukan adanya beberapa serapan khas yang mengindikasikan adanya gugus fungsional tertentu dalam senyawa yang terkandung dalam ekstrak. Pada bilangan gelombang 2962,87 cm⁻¹, 2925,65 cm⁻¹, dan 2853,01 cm⁻¹ terdeteksi adanya ikatan C-H, yang merupakan indikasi keberadaan *ALK*il atau metil dalam senyawa tersebut. Selain itu, bilangan gelombang 1556,65 cm⁻¹ menunjukkan adanya gugus C=C aromatik, yang menandakan adanya ikatan rangkap dalam struktur senyawa yang bersifat aromatik. Pada bilangan gelombang 1403,35 cm⁻¹, terdapat indikasi keberadaan gugus -CH₃, yang menunjukkan adanya kelompok metil. Di sisi lain, bilangan gelombang 1344,00 cm⁻¹ mengindikasikan adanya gugus amina tersier aromatis, sementara bilangan gelombang 1018,76 cm⁻¹ menunjukkan keberadaan amina tersier alifatis. Terakhir, bilangan gelombang 3358,35 cm⁻¹ menunjukkan adanya gugus O-H, yang berfungsi sebagai indikasi adanya senyawa dengan gugus hidroksil yang dapat berperan dalam interaksi ikatan hidrogen.

Selanjutnya, analisis menggunakan teknik kromatografi gas spektrometri massa (GC-MS) mengungkapkan bahwa senyawa aktif yang diperoleh adalah jenis diterpene *cembranoid*, yang dalam hal ini adalah thunbergol, yang juga dikenal sebagai cembratrienol atau isocembrol. Senyawa ini termasuk dalam kategori diterpene dengan struktur yang memiliki potensi bioaktif, yang perlu dieksplorasi lebih lanjut dalam konteks terapeutik, terutama dalam pengembangan obat untuk kanker.

Penelitian ini juga mencakup studi interaksi molekuler melalui metode docking molekuler untuk mengevaluasi potensi senyawa *Cembranoid-type* diterpene (thunbergol) dalam mengikat dan berinteraksi dengan protein target, seperti *KRAS*, *EGFR*, dan *ALK*, yang diketahui terlibat dalam mekanisme kanker paru. Dalam analisis ini, energi bebas pengikatan atau ΔG digunakan sebagai indikator utama untuk menilai potensi interaksi antara ligan dan reseptor. Hasil docking menunjukkan bahwa nilai ΔG untuk interaksi antara ligan thunbergol dengan reseptor *KRAS* adalah yang paling negatif di antara kedua reseptor lainnya, yaitu *EGFR* dan *ALK*. Hal ini menandakan bahwa interaksi antara thunbergol dengan *KRAS* memiliki kekuatan ikatan yang lebih tinggi dan stabilitas yang lebih besar dibandingkan dengan interaksinya dengan *EGFR* dan *ALK*. Selain itu, nilai koefisien hambatan terkecil juga ditemukan pada reseptor *KRAS*, yang menunjukkan bahwa ligan thunbergol memiliki kecenderungan untuk mengikat *KRAS* lebih kuat dibandingkan dengan *EGFR* atau *ALK*. Meskipun *EGFR* menunjukkan adanya dua ikatan hidrogen, yang lebih banyak dibandingkan dengan *KRAS* dan *ALK*, namun *KRAS* tetap menunjukkan potensi interaksi yang lebih besar berdasarkan ΔG yang lebih negatif dan nilai koefisien hambatan yang lebih rendah.

Dari hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa *KRAS* memiliki potensi paling besar untuk berinteraksi dengan *cembranoid-type diterpene* (thunbergol), yang menjadikannya kandidat yang menarik untuk pengembangan terapi kanker paru. Berdasarkan temuan ini, *KRAS* dapat menjadi target utama dalam penelitian lebih lanjut untuk mengeksplorasi potensi senyawa *Cembranoid-type diterpene* sebagai terapi potensial dalam pengobatan kanker paru, yang diharapkan dapat memberikan alternatif pengobatan yang lebih efektif dan inovatif

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Adapun kesimpulan pada penelitian ini yaitu :

1. Didapatkan ikatan pada ligand *cembranoid* type-diterpene dengan mutasi gen pada kanker paru.
2. *KRAS* memiliki ΔG yang paling negatif ketika berinteraksi dengan ligan *Cembranoid-type diterpene*.
3. Senyawa aktif *cembranoid-type diterpene* didapatkan dalam bentuk *thunbergol* pada hasil *GC-MS*.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengonfirmasi potensi senyawa *cembranoid-type diterpene* sebagai kandidat terapi kanker paru, khususnya terhadap mutasi gen yang telah dianalisis. Penelitian selanjutnya sebaiknya mencakup uji *in vitro* pada kultur sel kanker paru untuk mengevaluasi efektivitas dan mekanisme kerja senyawa ini secara lebih mendalam. Selain itu, uji *in vivo* pada model hewan juga diperlukan untuk memahami farmakokinetik, farmakodinamik, serta potensi toksisitas senyawa sebelum dapat dipertimbangkan untuk pengembangan lebih lanjut.

Di sisi lain, metode molecular docking yang digunakan dalam studi ini dapat ditingkatkan dengan melakukan simulasi molecular dynamics, sehingga stabilitas interaksi antara senyawa dengan protein target dapat dianalisis dalam kondisi lingkungan biologis yang lebih realistis. Penggunaan berbagai perangkat lunak docking juga disarankan untuk validasi silang dan meningkatkan akurasi hasil penelitian. Selain itu, penelitian ini dapat dikembangkan lebih lanjut dengan mengeksplorasi senyawa turunan *cembranoid* atau melakukan modifikasi struktur kimia guna meningkatkan afinitas dan selektivitasnya terhadap target mutasi gen pada kanker paru.

Implikasi klinis dari penelitian ini juga perlu dikaji lebih lanjut, terutama terkait formulasi dan rute pemberian senyawa agar dapat diaplikasikan secara efektif dalam terapi kanker paru. Studi kombinasi dengan obat kemoterapi atau

terapi target yang sudah ada juga bisa menjadi alternatif untuk menilai efek sinergis yang mungkin meningkatkan efektivitas pengobatan. Dengan berbagai pengembangan tersebut, diharapkan penelitian ini dapat menjadi dasar bagi studi lanjutan dalam menemukan terapi yang lebih efektif dan spesifik untuk kanker paru.

DAFTAR PUSTAKA

1. Bade BC, Dela Cruz CS. Lung Cancer 2020: Epidemiology, Etiology, and Prevention. *Clin Chest Med.* 2020;41(1):1-24. doi:10.1016/j.ccm.2019.10.001
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. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(3):209-249. doi:10.3322/caac.21660
3. 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
4. Septiady1 TB, Hidayatullah1 MR, Rofiq1 A, et al. *In Silico Study of Cembranoid-Type Diterpene Targeting Kirsten Rat Sarcoma Virus (KRAS) Gene in Lung Cancer.* Vol 1.; 2022. <http://jurnal.unpad.ac.id/ijpst/>
5. Forsythe ML, Alwithenani A, Bethune D, et al. Molecular profiling of non-small cell lung cancer. *PLoS One.* 2020;15(8 August 2020):1-13. doi:10.1371/journal.pone.0236580
6. Ramalingam SS, Yang JCH, Lee CK, et al. Osimertinib as first-line treatment of *EGFR* mutation-positive advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2018;36(9):841-849. doi:10.1200/JCO.2017.74.7576
7. Yuan XL, Mao XX, Du YM, Yan PZ, Hou XD, Zhang ZF. Anti-tumor activity of *cembranoid*-type diterpenes isolated from *Nicotiana tabacum* L. *Biomolecules.* 2019;9(2). doi:10.3390/biom9020045
8. Zhang W, Pan X, Fu J, et al. Phytochemicals derived from *Nicotiana tabacum* L. plant contribute to pharmaceutical development. *Front Pharmacol.* 2024;15(April):1-19. doi:10.3389/fphar.2024.1372456
9. (Yusra et al. 2019). , Kiki Kusyaeri Hamdani. *J Bioind.* 2022;4(2):1-9.
10. Oktavia FD, Sutoyo S. Skrining Fitokimia, Kandungan Flavonoid Total, Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Tumbuhan *Selaginella doederleinii*. *J Kim Ris.* 2021;6(2):141. doi:10.20473/jkr.v6i2.30904
11. Ayu IW, Putu Nyoman N, Udayani W, Putri GA. Artikel Review : Peran Antioksidan Flavonoid dalam Menghambat Radikal Bebas. *J Syifa Sci Clin Res.* 2024;6(2):188-197.
12. Schorderet Weber S, Kaminski KP, Perret JL, et al. Antiparasitic properties of leaf extracts derived from selected *Nicotiana* species and *Nicotiana tabacum* varieties. *Food Chem Toxicol.* 2019;132(July):110660. doi:10.1016/j.fct.2019.110660
13. Houston T. Screening for Lung Cancer. *Med Clin North Am.* 2020;104(6):1037-1050. doi:10.1016/j.mcna.2020.08.005
14. Tesfaw LM, Dessie ZG, Mekonnen Fenta H. Lung cancer mortality and associated predictors: systematic review using 32 scientific research findings. *Front Oncol.* 2023;13(December):1-12. doi:10.3389/fonc.2023.1308897
15. Buana I, Harahap DA. Asbestos, Radon Dan Polusi Udara Sebagai Faktor Resiko Kanker Paru Pada Perempuan Bukan Perokok. *AVERROUS J Kedokt dan Kesehatan Malikussaleh.* 2022;8(1):1. doi:10.29103/averrous.v8i1.7088

16. Solomon BJ, Liu G, Felip E, et al. Lorlatinib Versus Crizotinib in Patients With Advanced *ALK* -Positive Non-Small Cell Lung Cancer: 5-Year Outcomes From the Phase III CROWN Study . *J Clin Oncol*. 2024;42(29). doi:10.1200/jco.24.00581
17. Ay L, Steiner D, Fabikan H, et al. Neoadjuvant therapy in early-stage non-small cell lung cancer: A real-world analysis. *Lung Cancer*. 2024;198(October):107997. doi:10.1016/j.lungcan.2024.107997
18. 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
19. Gusungi DE, Maarisit W, Hariyadi H, Potalangi NO. Studi Aktivitas Antioksidan Dan Antikanker Payudara (MCF-7) Ekstrak Etanol Daun Benalu Langsung *Dendrophthoe pentandra*. *Biofarmasetikal Trop*. 2020;3(1):166-174. doi:10.55724/j.biofar.trop.v3i1.274
20. Fan J, Fu A, Zhang L. Progress in molecular docking. *Quant Biol*. 2019;7(2):83-89. doi:10.1007/s40484-019-0172-y
21. Paggi JM, Pandit A, Dror RO. The Art and Science of Molecular Docking. *Annu Rev Biochem*. 2024;93(1):389-410. doi:10.1146/annurev-biochem-030222-120000
22. Ferreira LG, Dos Santos RN, Oliva G, Andricopulo AD. *Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies*. Vol 20.; 2015. doi:10.3390/molecules200713384
23. Raval K, Ganatra T. Basics, types and applications of molecular docking: A review. *IP Int J Compr Adv Pharmacol*. 2022;7(1):12-16. doi:10.18231/j.ijcaap.2022.003
24. Doytchinova I. Drug Design—Past, Present, Future. Published online 2022.
25. Orosz F, Vértessy BG. What's in a name? From “fluctuation fit” to “conformational selection”: rediscovery of a concept. *Hist Philos Life Sci*. 2021;43(3):88. doi:10.1007/s40656-021-00442-2
26. O'Boyle NM, Banck M, James CA, Morley C, Vandermeersch T, Hutchison GR. Open Babel: An Open chemical toolbox. *J Cheminform*. 2011;3(10):33. doi:10.1186/1758-2946-3-33
27. Stitou M, Toufik H, Bouachrine M, Lamchouri F. Quantitative structure–activity relationships analysis, homology modeling, docking and molecular dynamics studies of triterpenoid saponins as Kirsten rat sarcoma inhibitors. *J Biomol Struct Dyn*. 2021;39(1):152-170. doi:10.1080/07391102.2019.1707122
28. Gao Y, Wang H, Wang J, Cheng M. In silico studies on p21-activated kinase 4 inhibitors: comprehensive application of 3D-QSAR analysis, molecular docking, molecular dynamics simulations, and MM-GBSA calculation. *J Biomol Struct Dyn*. 2020;38(14):4119-4133. doi:10.1080/07391102.2019.1673823

LAMPIRAN

Lampiran 1 Data Hasil Karakterisasi

FORM HASIL ANALISIS

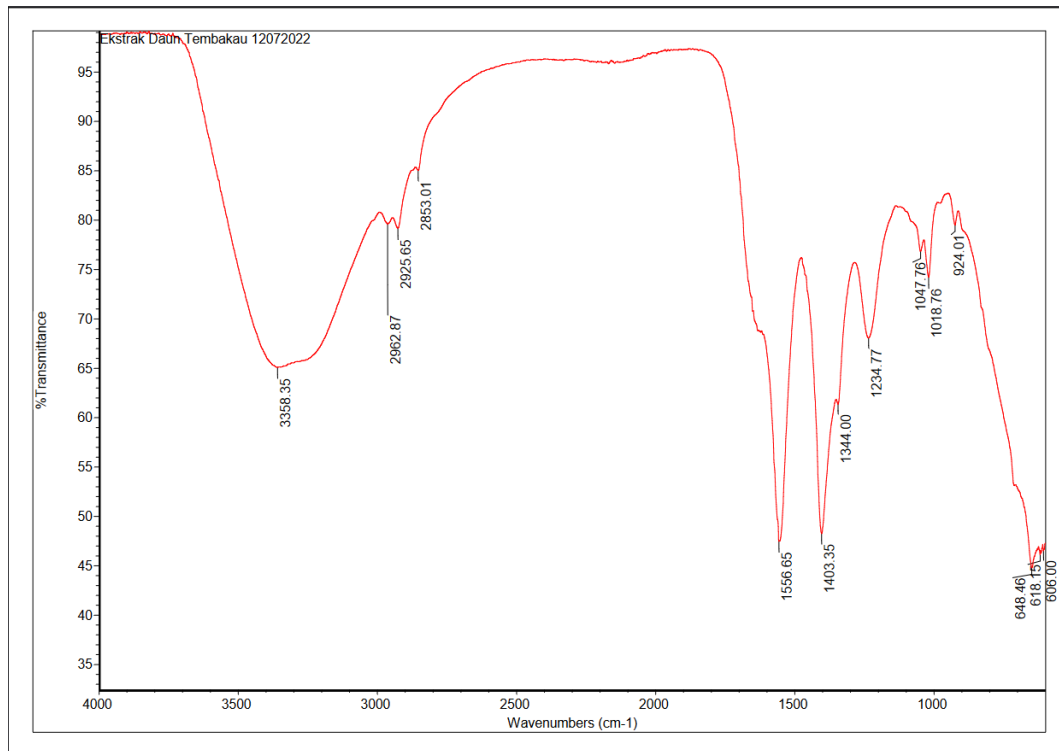
NAMA : FAKULTAS KEDOKTERAN UMSU
 ALAMAT : JALAN GEDUNG ARCA NO. 53 MEDAN
 SAMPEL : DAUN TEMBAKAU
 TANGGAL PENERIMAAN : 16 JUNI 2022
 TANGGAL PENGUJIAN : 17 JUNI 2022 – 3 JULI 2022

HASIL PEMERIKSAAN

No.	Jenis Sampel	Kriteria Uji	Hasil Uji	Metode pengujian
1	Daun Tembakau 2,5 kg	Kadar Air	41,5 %	Pengeringan
2	Simplisia Daun Tembakau	Ekstrak Cair	1,4 L, hijau kehitaman	Maserasi
3	Ekstrak Daun Tembakau	Bentuk	Kental	Organoleptik
		Bau	Khas	Organoleptik
		Warna	Hijau Kehitaman	Organoleptik
		Rasa	Pahit	Organoleptik
		Hasil Ekstrak	20,2 gram	Evaporasi, Waterbatch
		Hasil Rendemen Ekstrak	6,77 %	Evaporasi, Waterbatch

Catatan : Pengambilan Sampel di luar tanggung jawab Laboratorium

Lampiran 2 *FTIR* Ekstrak Daun Tembakau



Lampiran 3 Surat Identifikasi Tanaman



**HERBARIUM MEDANENSE
(MEDA)
UNIVERSITAS SUMATERA UTARA**

JL. Bioteknologi No.1 Kampus USU, Medan – 20155
Telp. 061 – 8223564 Fax. 061 – 8214290 E-mail: nursaharapasaribu@yahoo.com

Medan, 14 Juni 2022

No. : 904/MEDA/2022
Lamp. : -
Hal : Hasil Identifikasi

Kepada YTH,
Sdr/i : Afifah Endah Dwi Purianti
NIM : 2108260120
Instansi : Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

Dengan hormat,
Bersama ini disampaikan hasil identifikasi tumbuhan yang saudara kirimkan ke Herbarium Medanense, Universitas Sumatera Utara, sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Kelas : Dicotyledoneae
Ordo : Solanales
Famili : Solanaceae
Genus : Nicotiana
Spesies : *Nicotiana tabacum* L.
Nama Lokal: Daun Tembakau Murni

Demikian, semoga berguna bagi saudara.



Kepala Herbarium Medanense.

Dr. Etti Sartina Siregar S.Si., M.Si.
NIP. 197211211998022001

Lampiran 4 Surat Ijin Penelitian dari Komisi Etik



UMSU
Unggul | Cerdas | Terpercaya

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
HEALTH RESEARCH ETHICS COMMITTEE
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
FACULTY OF MEDICINE UNIVERSITY OF MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK
DESCRIPTION OF ETHICAL APPROVAL
"ETHICAL APPROVAL"
No : 816/KEPK/FKUMSU/2022

Protokol penelitian yang diusulkan oleh :
The Research protocol proposed by

Peneliti Utama : Teuku Baihaqi Septiady
Principal In Investigator

Anggota : Afifah Endah Dwi Purianti, Indyra Mahrani, Muhammadi Rafly Hidayatullah, Ainur Rofiq
Member

Dosen Pembimbing : Dr.dr.Humairah Medina Liza Lubis, M.Ked(PA), Sp.PA
Lecture

Nama Institusi : Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara
Name of the Institution
Faculty of Medicine University of Muhammadiyah Sumatera Utara

Dengan Judul
Title

"UTILITAS SENYAWA AKTIF CEMBRANOID TYPE DITERPENE DAUN TEMBAKAU MURNI (NICOTIANA TABACUM L.) SEBAGAI KANDIDAT TERAPI PENUNJANG KANKER PARU"

"UTILITY OF ACTIVE COMPOUND CEMBRANOID TYPE DITERPENE PURE TOBACCO LEAVES (NICOTIANA TABACUM L.) AS A THERAPEUTIC CANDIDATE SUPPORTING LUNG CANCER"

Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah
3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Resiko, 5) Bujukan / Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan
7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.

Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assessment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion / Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicator of each standard

Pernyataan Laik Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 10 Juni 2022 sampai dengan tanggal 10 Juni 2023
The declaration of ethics applies during the periode Juni 10, 2022 until Juni 10, 2023

Medan, 10 Juni 2022
Ketua



Dr. dr. Nurfadly, MKT

Lampiran 5 Surat Ijin Penelitian dari Laboratorium Mega Global Safety Indonesia



Binjai, 24 Juli 2022

No : 103 A/002/VII/Penelitian/2022
 Lampiran : -
 Perihal : Surat Keterangan Melaksanakan Penelitian

Kepada Yth
 Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara
 Di
 Tempat

Sesuai dengan tuntutan Program Kreativitas Mahasiswa (PKM) Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara Fakultas Kedokteran bahwa mahasiswa sebagai berikut :

No	NPM	Nama	Jabatan
1	2108260075	Teuku Baihaqi Septiady	Ketua
2	2108260123	Muhammad Rafly Hidayatullah	Anggota
3	2108260120	Afifah Endah Dwi Purianti	Anggota
4	2108260086	Indyra Mahrani Lubis	Anggota
5	2108260137	Ainur Rofiq	Anggota

Judul Penelitian : Utilitas Senyawa Aktif Cembranoid – Type Diterpene Daun Tembakau Murni (*Nicotiana Tabacum L.*) Sebagai Kandidat Terapi Penunjang Kanker Paru.

Benar telah selesai melakukan penelitian di PT. Multi Global Safety pada Juni – Juli 2022.
 Demikianlah surat keterangan ini kami sampaikan untuk dipergunakan sebagaimana mestinya

PT. MULTI GLOBAL SAFETY INDONESIA


 Freddy Tulus Tampubolon
 Direktur

Jl. Raya Medan Binjai km 12 Mulio Rejo Medan Sunggal Deli Serdang Sumatera Utara ,
 email : mg.safetyindonesia@gmail.com website : mg.safetyindonesia.com

Dipindai dengan CamScanner

Cpd 54: Thunbergol; C20H34O; 14.263	14.263	Thunbergol	C20H34O	5	81.45	W10N14.L
Cpd 55: Caryophyllene oxide; C15H24O; 14.466	14.466	Caryophyllene oxide	C15H24O	5	78.45	NIST14.L
Cpd 56: [4aR,8aR] - 1,2,3,4,4a,7,8,8a - octahydro - 1,1,4a,6 - tetramethyl - naphthalene; C14H24; 14.595	14.595	[4aR,8aR] - 1,2,3,4,4a,7,8,8a - octahydro - 1,1,4a,6 - tetramethyl - naphthalene	C14H24	5	68.79	W10N14.L
Cpd 57: GERANYL LINALOOL ISOMER B; C20H34O; 14.817	14.817	GERANYL LINALOOL ISOMER B	C20H34O	5	66.61	W10N14.L
Cpd 58: Caryophyllene oxide; C15H24O; 14.946	14.946	Caryophyllene oxide	C15H24O	5	80.13	NIST14.L
Cpd 59: Thunbergol; C20H34O; 15.057	15.057	Thunbergol	C20H34O	5	86.07	W10N14.L
Cpd 60: Bis(2-ethylhexyl) phthalate; C24H38O4; 15.925	15.925	Bis(2-ethylhexyl) phthalate	C24H38O4	5	98.51	W10N14.L
Cpd 61: E-limonene-1,2-epoxide; C10H16O; 16.184	16.184	E-limonene-1,2-epoxide	C10H16O	5	66.66	W10N14.L
Cpd 62: 16.886	16.886			0		
Cpd 63: 18.751	18.751			0		
Cpd 64: Diethyl 3-cyclopentenyl - phosphonate; C9H17O3P; 19.065	19.065	Diethyl 3-cyclopentenyl - phosphonate	C9H17O3P	5	91.7	W10N14.L
Cpd 65: 5-Chloro-2,4-nonamethylene-5,6,7,8-tetrahydroquinoline; C18H26ClN; 19.176	19.176	5-Chloro-2,4-nonamethylene-5,6,7,8-tetrahydroquinoline	C18H26ClN	5	83.2	W10N14.L
Cpd 66: 5-Chloro-2,4-nonamethylene-5,6,7,8-tetrahydroquinoline; C18H26ClN; 19.305	19.305	5-Chloro-2,4-nonamethylene-5,6,7,8-tetrahydroquinoline	C18H26ClN	5	81.38	W10N14.L
Cpd 67: 5-Chloro-2,4-nonamethylene-5,6,7,8-tetrahydroquinoline; C18H26ClN; 19.804	19.804	5-Chloro-2,4-nonamethylene-5,6,7,8-tetrahydroquinoline	C18H26ClN	5	82.47	W10N14.L
Cpd 68: 5-Chloro-2,4-nonamethylene-5,6,7,8-tetrahydroquinoline; C18H26ClN; 19.915	19.915	5-Chloro-2,4-nonamethylene-5,6,7,8-tetrahydroquinoline	C18H26ClN	5	73.82	W10N14.L
Cpd 69: Di-isodecyl phthalate; C28H46O4; 20.562	20.562	Di-isodecyl phthalate	C28H46O4	5	74.68	W10N14.L
Cpd 70: 21.596	21.596			0		
Cpd 71: Benzyl N,N'-di(3,4-methylenedioxybenzoyl)imidodiselenocarbamate; C24H18N2O6Se; 21.928	21.928	Benzyl N,N'-di(3,4-methylenedioxybenzoyl)imidodiselenocarbamate	C24H18N2O6Se	5	75.14	W10N14.L
Cpd 72: 7-Iodo-6-methylene-spiro[4.4]nonanone; C10H13IO; 22.464	22.464	7-Iodo-6-methylene-spiro[4.4]nonanone	C10H13IO	5	61.62	W10N14.L
Cpd 73: CHOLEST-5-EN-3-YL (9Z)-9-OCTADECENOATE; C45H78O2; 29.945	29.945	CHOLEST-5-EN-3-YL (9Z)-9-OCTADECENOATE	C45H78O2	5	55.19	W10N14.L
Cpd 74: 2,2-Diphenyl-1-(4-methoxyphenyl)-1,2-dihydroazeto[2,1-b]quinazolin-8-one; C29H22N2O2; 30.499	30.499	2,2-Diphenyl-1-(4-methoxyphenyl)-1,2-dihydroazeto[2,1-b]quinazolin-8-one	C29H22N2O2	5	77.9	W10N14.L
Cpd 75: Ergost-5-en-3-ol, (3.beta.)-; C28H48O; 32.236	32.236	Ergost-5-en-3-ol, (3.beta.)-	C28H48O	4	60.56	W10N14.L
Cpd 76: Stigmasta-5,23-dien-3-ol, (3.beta.)-; C29H48O; 32.993	32.993	Stigmasta-5,23-dien-3-ol, (3.beta.)-	C29H48O	5	87.9	W10N14.L
Cpd 77: (Z)-7,7,8,8,9,9,10,10,10-nonafluoro-5-iodo-2-methyl-4-decen-3-ol; C11H12F9IO; 34.452	34.452	(Z)-7,7,8,8,9,9,10,10,10-nonafluoro-5-iodo-2-methyl-4-decen-3-ol	C11H12F9IO	5	63.86	W10N14.L

Lampiran 8 Aritikel Ilmiah

STUDI INTERAKSI MOLEKULER MELALUI MOLECULAR DOCKING SENYAWA CEMBRANOID-TYPE DITERPENE DARI DAUN TEMBAKAU (*Nicotiana tabacum L.*) DENGAN MUTASI GEN PADA KANKER PARU

Ainur Rofiq¹, Humairah Medina Liza Lubis²

¹Faculty of Medicine, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, Jl Gedung Arca No 53, Medan, Indonesia

²Department of Anatomical Pathology, Faculty of Medicine, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, Medan, Jl Gedung Arca No 53, Medan, Indonesia

Abstrak

Salah satu penyebab kanker paru-paru adalah perubahan genetik pada gen V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog (KRAS) yang terlibat dalam jalur pensinyalan yang terkait dengan proliferasi, diferensiasi sel, dan apoptosis. Mutasi titik pada gen KRAS terdeteksi pada 15% hingga 20% dari semua Karsinoma Paru-paru Non-Sel Kecil (NSCLC) dan sekitar 30% adenokarsinoma paru-paru, dengan mutasi yang paling umum berada pada kodon 12. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui reaksi pengikatan antara senyawa cembranoid tipe diterpene dari daun tembakau (*Nicotiana tabacum L.*) dan KRAS pada kanker paru-paru manusia. Kami menemukan adanya senyawa aktif diterpene tipe cembranoid berupa thunbergol (C₂₀H₃₄O) dengan pemeriksaan Gas Chromatography and Mass Spectroscopy (GC-MS). Berdasarkan hasil molecular docking, ditemukan bahwa ligan cembranoid tipe diterpene berikatan dengan reseptor KRAS dengan hasil G -7,0 kkal/mol, pKi 7,35 M, 1 ikatan hidrogen dengan tipe ILE36 (1.937 Angstrom). Kesimpulannya, cembranoid tipe diterpene dapat dianggap sebagai senyawa anti-kanker karena interaksi molekuler dengan diterpene tipe cembranoid melalui proliferasi sel dan jalur diferensiasi serta apoptosis.

Kata kunci: diterpen tipe cembranoid, dalam silico, KRAS, kanker paru-paru, mekanisme kerja

Abstract

*One of the causes of lung cancer is genetic alterations in the gene V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homologous (KRAS) which is involved in signaling pathways related to proliferation, cell differentiation, and apoptosis. Point mutations in the KRAS gene are detected in 15% to 20% of all Non-Small Cell Lung Carcinoma (NSCLC) and about 30% of lung adenocarcinomas, with the most common mutation being in codon 12. This study aims to determine the binding reaction between cembranoid-type diterpene compounds from tobacco leaves (*Nicotiana tabacum* L.) and KRAS in human lung cancer. We found the presence of an active compound of cembranoid-type diterpene in the form of thunbergol (C₂₀H₃₄O) by gas chromatography and mass spectroscopy (GC-MS). Based on the results of molecular docking, it was found that the cembranoid-type diterpene ligand binds to the KRAS receptor with a result of G -7.0 kcal/mol, pKi 7.35 M, 1 hydrogen bond with type ILE36 (1,937 Angstrom). In conclusion, cembranoid-type diterpenes can be considered as anti-cancer compounds due to their molecular interactions with cembranoid-type diterpenes through cell proliferation and differentiation pathways and apoptosis.*

Keywords : *cembranoid-type diterpene, in silico, KRAS, lung cancer, mechanism of action*

PENDAHULUAN

Kanker paru-paru adalah penyebab utama kematian akibat kanker di seluruh dunia. Dalam database GLOBOCAN 2018, 2,09 juta kasus baru dan 1,76 juta kematian akibat kanker paru-paru. Badan Internasional untuk Penelitian Kanker (IARC) merilis 10 jenis utama kanker pada tahun 2020 yang paling sering menyumbang lebih dari 60% kasus kanker dan 70% kematian akibat kanker, peringkat kedua ditempati oleh kanker paru-paru (11,4%).¹ Kanker paru-paru adalah kanker yang paling sering didiagnosis dan penyebab utama kematian akibat kanker (18,0% dari total kematian akibat kanker).²

Secara histologis, kanker paru-paru dapat dibagi menjadi kanker paru-paru sel kecil dan kanker paru-paru sel besar. Kanker paru-paru sel besar terdiri dari 80% kasus kanker paru-paru dan dibagi lagi menjadi adenokarsinoma, karsinoma sel skuamosa, dan karsinoma sel besar. Perkembangan kanker paru-paru sangat kompleks, sebagai akibat dari interaksi genetik dan lingkungan. Faktor risiko antara lain konsumsi tembakau terutama dalam bentuk merokok, paparan radiasi, dan racun lingkungan, misalnya radon, asbestos, arsenik, kromium, nikel, dan lain-lain.³ Selain rokok sebagai faktor risiko utama, faktor risiko kanker paru-paru lainnya adalah paparan lingkungan terhadap bahan kimia karsinogenik seperti polusi udara (asap terbakar dan asap kendaraan) termasuk perokok tangan kedua dan ketiga yang terpapar asap rokok dari lingkungan sekitar dan yang paling mengejutkan ternyata faktor genetik juga berperan besar dalam penularan kasus kanker paru-paru.⁴

Efek paparan rokok tembakau pada sitologi sel epitel saluran napas normal mengungkapkan bahwa merokok tembakau menyebabkan penyimpangan molekuler yang luas di saluran napas yang menunjukkan area cedera yang terkait dengan onkogenesis paru. Gejala yang paling umum adalah sesak napas, batuk (termasuk batuk darah), dan penurunan berat badan. Reseptor faktor pertumbuhan epidermis (EGFR), reseptor tirosin kinase, sering diekspresikan secara berlebihan pada kanker paru-paru non-sel kecil (NSCLC). Reseptor ini memainkan peran penting dalam kelangsungan hidup sel tumor. Ekspresi ini tergantung pada sub tipe histologis, yang paling sering diekspresikan pada karsinoma sel skuamosa tetapi juga sering diekspresikan pada adenokarsinoma dan karsinoma sel besar.⁵ Perubahan molekuler dapat ditemukan seperti perubahan genetik (mutasi), variasi nomor salinan, dan metilasi Asam Deoksiribonukleat (DNA) di epitel saluran napas.⁶

Mutasi gen yang paling sering dilaporkan pada kanker paru-paru terjadi pada gen V-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog (KRAS). Produk gen menyimpang yang dihasilkan terlibat dalam jalur pensinyalan yang terkait dengan proliferasi, diferensiasi sel, dan apoptosis.⁷ Mutasi ini, terutama KRAS, menyebabkan kanker menjadi resisten terhadap terapi pribadi standar yang biasa diberikan kepada penderita kanker, yaitu tyrosine kinase inhibitor (TKI) yang ditargetkan oleh susunan genetik individu, termasuk resistensi terhadap kemoterapi konvensional dan terapi radiasi. Metode konvensional ini tidak spesifik untuk sel kanker dan malah menyerang sel normal

selain sel kanker yang ada. Pengobatan yang tidak memadai dan timbulnya resistensi menyebabkan prognosis yang buruk dan tingkat kematian pasien kanker paru-paru juga meningkat.⁸

Hal ini mengarahkan perlunya mengeksplorasi keanekaragaman hayati Indonesia yang berpotensi menjadi terapi pendukung kanker alami (adjuvant) yang tidak menimbulkan efek samping dan diarahkan langsung pada sel target kanker. Bahan alami yang digunakan dalam penelitian ini adalah bahan alami yang dikenal masyarakat sebagai bahan yang dapat menjadi penyebab utama kanker paru-paru, namun ternyata dapat menjadi bahan utama penunjang terapi kanker paru-paru, yaitu tembakau murni (*Nicotiana tabacum* L.) yang tergolong tanaman perkebunan. Tanaman ini menghasilkan temuan terbaru dan menjadi subjek diskusi ilmiah yang sangat menarik untuk diteliti. Dan ternyata fakta yang paling menarik setelah penelitian, penelitian ini merupakan studi pertama dari beberapa mutase gen yang terlibat dalam kanker paru-paru dengan menggunakan tembakau sebagai terapi penyembuhan.

Daun tembakau memiliki berbagai komponen kimia, banyak di antaranya bioaktif. Cembranoids adalah diterpen makrosiklik yang terutama ditemukan pada tanaman yang termasuk dalam genus *nicotiana* dan pinus serta organisme laut. Tanaman tembakau mengandung kandungan diterpene tipe cembranoid (CBD) tertinggi. Bioaktivitas CBD tembakau terlihat dalam beberapa penelitian termasuk memiliki aktivitas antijamur, antibakteri, antivirus dan antiparasit yang baik dan juga sebagai neuroprotektif.^{9,10}

Bahan aktif CBD dari tanaman tembakau juga telah terbukti efektif sebagai agen antikanker dengan menginduksi apoptosis sel kanker. Penelitian 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-NFkB-IAP,¹¹ tetapi untuk kanker paru-paru, terapi adjuvan sendiri belum ditemukan referensi yang mendukung, terutama dalam kaitannya dengan mutasi gen KRAS. Melalui penelitian ini, sumber daya tembakau yang melimpah dapat dimanfaatkan, menyelidiki potensi senyawa aktif gugus cembranoid dari daun tembakau murni (*Nicotiana tabacum* L.) sebagai antikanker melalui target protein KRAS dan memahami mekanisme aksi antikanker sehingga dapat diterapkan dalam terapi klinis di masa depan.

METODE

Penelitian ini merupakan studi *in silico* yang bertujuan untuk mengetahui interaksi antara senyawa gugus diterpene tipe cembranoid yang terdapat pada daun tembakau terhadap mutasi gen pada kanker paru-paru. Beberapa tahapan harus dilalui untuk mendapatkan hasil yang diinginkan, seperti persiapan sampel dan maserasi, analisis Spektroskopi Fourier Transform InfraRed (FTIR), analisis Gas Chromatography and Mass Spectroscopy (GC-MS), dan analisis *in silico*.

Tahap pertama adalah persiapan sampel dan maserasi, yaitu sebanyak dua ribu lima ratus gram tembakau

diidentifikasi di laboratorium, kemudian dibersihkan, dicuci, diiris tipis, dikeringkan, dan dihaluskan. Simplisia merendam etanol 96% (1:10) selama 3 hari dengan beberapa pengadukan di tempat penyimpanan yang gelap. Disaring dengan filtrasi vakum dan kertas saring Whatman no. 40, diuapkan dengan rotary evaporator T=55°C, P=80 mBar.

Tahap kedua adalah Fourier Transform InfraRed Spectroscopic analysis (FTIR), yang digunakan untuk menentukan jenis gugus fungsional pada jaringan tumbuhan yang terisolasi. Tampilan spektrum menunjukkan puncak yang menunjukkan kluster tertentu dengan grafik rasio penyerapan nomor gelombang terhadap pemancar (%T). Sampel ekstrak etanol 96% 5-10% dimasukkan pada permukaan sel dan pengukuran dilakukan.

Tahap ketiga adalah analisis Gas Chromatography and Mass Spectroscopy (GC-MS), di mana sampel daun tembakau dipisahkan terlebih dahulu dengan alat GC, kemudian diidentifikasi dengan alat MS. Tahap ini harus melalui berbagai prosedur penelitian, seperti pencarian asam amino yang membentuk protein target, pencarian struktur senyawa aktif diterpen tipe cembranoid dari *Nicotiana tabacum* L, pemodelan struktur 3D protein, docking dan visualisasi antara protein-ligan, dan menganalisis interaksi ikatan antara protein dan ligan.

Inti dari proses penelitian ini adalah dalam silico, yaitu dalam proses docking dan visualisasi antar ligan protein. Diterpene Cembranoid Ligands diambil dari database Web Server Protein Data Bank (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) dalam bentuk 3D. Struktur 3D yang telah

diperoleh kemudian diminimalkan untuk mendapatkan konformasi struktural yang paling stabil dengan menggunakan software Open Babel. Jika proses minimalisasi selesai, klik kanan pada hasil minimalisasi, dan pilih konversi ke ligan pdbqt.

File yang semula dalam bentuk SDF akan disimpan dalam bentuk file pdbqt. Format file pdbqt berfungsi untuk menunjukkan keberadaan muatan parsial pada setiap atom. Struktur 3D Cembranoid Diterpene diperoleh dengan memasukkan urutan asam amino dalam program Raptor X dan hasil yang diperoleh adalah data dalam bentuk format file PDB.

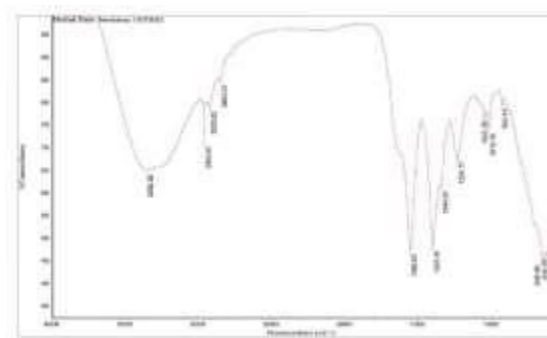
Persiapan KRAS, ALK, dan EGFR dilakukan dengan menggunakan AutoDockTools 1.5.6 dengan menghilangkan molekul air dan menambahkan beberapa hal seperti hidrogen nonpolar, muatan, dan atom. Kemudian grid disusun dengan membuat kotak grid yang menutupi permukaan protein target diikuti dengan program autogrid4 yang ditautkan ke aplikasi. Proses docking molekuler ligan dengan protein KRAS, ALK, dan EGFR dilakukan dengan program autogrid4. Output dari docking adalah dalam bentuk pose ligan di sisi aktif dan skor afinitasnya.

Analisis hasil docking dilakukan pada residu yang berinteraksi dengan ligan, parameter pengikatan energi (ΔG) Gibbs, konformasi struktural, afinitas, dan ikatan hidrogen antara Diterpene Cembranoids dengan KRAS, ALK, dan EGFR. Visualisasi hasil docking molekuler antara ligan dan protein dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak Edu PyMOL dan LIGPLOT. Visualisasi menggunakan perangkat lunak Edu PyMOL untuk mengklarifikasi sisi pengikatan ligan

dengan protein. Perangkat lunak LIGPLOT+ digunakan untuk menentukan interaksi jumlah dan jarak ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik, dan residu asam amino yang terlibat dalam interaksi antara ligan dan protein berdasarkan struktur 3D. Hasil analisis docking divisualisasikan lebih lanjut menggunakan perangkat lunak Discovery Studio 4.1, LigPlot+, dan LigandScout 3.1. Analisis interaksi antara protein dan ligan dilakukan untuk melihat jumlah dan jenis ikatan yang terbentuk, seperti ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik, dan ikatan van Der Waals.

HASIL DAN DISKUSI

Hasil yang diperoleh dari berbagai proses yang telah dilakukan sangat beragam. Hasil identifikasi ekstrak daun tembakau menggunakan spektrofotometer IR menunjukkan penyerapan khas pada luas nomor gelombang 2962,87 cm^{-1} , 2925,65 cm^{-1} , dan 2853,01 cm^{-1} yang menunjukkan adanya ikatan C-H, pada nomor gelombang 1556,65 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus aromatik C=C, pada nomor gelombang 1403,35 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus aromatik $-\text{CH}_3$, pada nomor gelombang 1344,00 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus amina tersier aromatik, pada nomor gelombang 1018,76 cm^{-1} menunjukkan adanya amina tersier alifatik dan adanya penyerapan pada nomor gelombang 3358,35 menunjukkan adanya gugus O-H (Gambar 1).



Gambar 1. Spektrum Gugus Fungsional Ekstrak Daun Tembakau

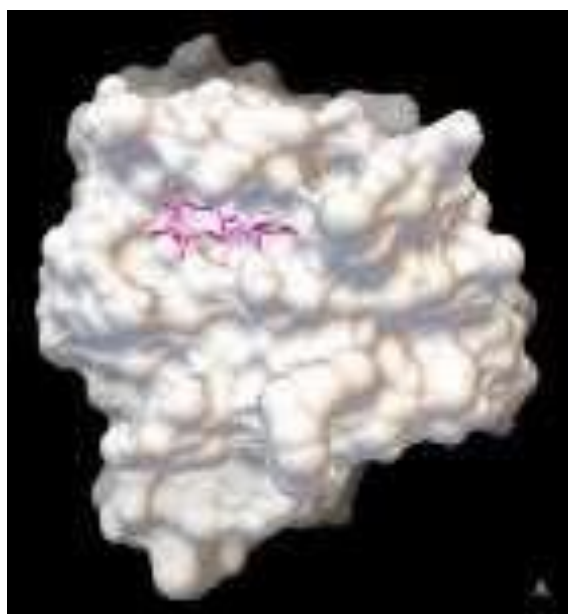
Senyawa aktif diterpene tipe cembranoid (KRAS) diperoleh dalam bentuk thunbergol pada hasil GC-MS. Cembratrienol juga disebut thunbergol atau isocembrol.

Setelah docking, ada interaksi antara ligan diterpene tipe Cembranoid (Thunbergol) dan reseptor KRAS (Gambar 2). Untuk mengetahui ligan mana yang paling mungkin berinteraksi dengan reseptor tertentu kemudian dapat didasarkan pada prediksi energi bebas yang mengikat. Semakin negatif energi gibbon, semakin tinggi interaksi pengikatan antara ligan dan reseptor. Semakin kecil nilai resistansi, semakin kuat ikatan ligan terhadap protein, dan semakin banyak jumlah ikatan hidrogen menunjukkan semakin kuat ikatan ligan terhadap protein. dapat dilihat bahwa KRAS memiliki ΔG paling negatif ketika berinteraksi dengan ligan diterpen tipe cembranoid. Dapat disimpulkan bahwa KRAS memiliki potensi terbesar untuk bereaksi dengan diterpen tipe Cembranoid berdasarkan nilai koefisien ΔG dan resistansi. Berikut ini adalah hasil docking antara reseptor dan ligan.

Tabel 1. Hasil docking antara reseptor dan ligan

Diterpen tipe cembranoid	KRAS
ΔG (Gibbs Energi)	-7.0
pKi (efisiensi kendala)	7,35 meter
Jumlah ikatan hidrogen	1H → HINGGA 36 (1.937 Angstrom)

Gambar 2. Interaksi Antara Ligan



Diterpene (Thunbergol) tipe Cembranoid dan Reseptor KRAS

Mutasi onkogenik KRAS melibatkan mutasi titik pada kodon 12 atau 13 pada ekson. KRAS mengkodekan aktivitas GTPase dalam protein yang mengatur pertumbuhan, diferensiasi, dan apoptosis sel dan berfungsi sebagai mediator hilir pensinyalan, translokasi kromosom, dan penataan ulang yang diinduksi EGFR pada reseptor ALK. Pensinyalan ALK dimulai dengan menciptakan fusi onkogenik khas gen ALK dalam gen yang mengarah pada aktivasi konstitutif domain kinase ALK.¹²

Penelitian ini telah menguntungkan dunia medis dengan penemuan teori docking antikanker paru CBD yang ditargetkan pada protein KRAS, EGFR, dan ALK dan telah terbukti memiliki peluang untuk dikembangkan sebagai salah satu pertimbangan pengobatan nabati alami dengan target protein, tentunya dengan uji praklinis dan klinis yang valid.

KESIMPULAN

Penelitian ini membuktikan bahwa senyawa gugus diterpene tipe cembranoid dari daun tembakau dapat digunakan sebagai antikanker paru yang ditargetkan untuk protein KRAS, EGFR, dan ALK, terutama yang berfokus pada KRAS. Ini konsisten dengan teori bahwa mutasi gen yang paling umum ditemukan pada kanker paru-paru adalah pada gen KRAS yang melibatkan kodon 12 atau 13.

REFERENSI

1. Bade BC, Dela Cruz CS. Kanker Paru-paru 2020: Epidemiologi, Etiologi, dan Pencegahan. Clin Chest Med [Internet]. 2020; 41(1):1–24. Tersedia dari: <https://doi.org/10.1016/j.ccm.2019.10.001>
2. Organisasi Kesehatan Dunia. Data kanker global terbaru: Beban kanker meningkat menjadi 19,3 juta kasus baru dan 10,0 juta kematian akibat kanker pada tahun 2020. Int Agency Res Kanker. 2020; (Desember):13–5.
3. Wu JY, Yu CJ, Shih JY. Efektivitas Pengobatan untuk Kanker Paru-paru Non-Sel Kecil Lanjut Dengan Mutasi Reseptor Faktor Pertumbuhan Epidermis Penyisipan Exon 20. Kanker Paru-paru Clin [Internet].

- 2019; 20(6):e620–30. Tersedia dari: <https://doi.org/10.1016/j.clcc.2019.06.018>
4. Mustafa M, Azizi AJ, Illzam E, Nazirah A, Sharifa S, Abbas S. Kanker Paru-paru: Faktor Risiko, Manajemen, Dan Prognosis. *IOSR J Dent Med Sci*. 2016; 15(10):94–101.
 5. Zhu T, Bao X, Chen M, Lin R, Zhuyan J, Zhen T, dkk. Mekanisme dan Masa Depan Metastasis Kanker Paru-paru Non-Sel Kecil. *Oncol Depan*. 2020; 10(November):1–16.
 6. Rahal Z, Nemr S El, Sinjab A, Chami H, Tfayli A, Kadara H. Merokok dan kanker paru-paru: Perspektif geo-regional. *Oncol Depan*. 2017; 7(SEP):1–7.
 7. Forsythe ML, Alwithenani A, Bethune D, Castonguay M, Drucker A, Flowerdew G, dkk. Profil molekuler kanker paru-paru non-sel kecil. *PLoS One* [Internet]. 2020; 15(8 Agustus 2020):1–13. Tersedia dari: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0236580>
 8. Ramalingam SS, Yang JCH, Lee CK, Kurata T, Kim DW, John T, dkk. Osimertinib sebagai pengobatan lini pertama kanker paru-paru non-sel kecil stadium lanjut positif mutasi EGFR. *J Clin Oncol*. 2018; 36(9):841–9.
 9. Yan N, Du Y, Liu X, Zhang H, Liu Y, Zhang Z. Tinjauan tentang bioaktivitas diterpen cembranoid tembakau. *Biomolekul*. 2019; 9(1).
 10. Schorderet Weber S, Kaminski KP, Perret JL, Leroy P, Mazurov A, Peitsch MC, dkk. Sifat antiparasit ekstrak daun yang berasal dari spesies *Nicotiana* terpilih dan varietas *Nicotiana tabacum*. *Makanan Chem Toxicol* [Internet]. 2019; 132(Mei):110660. Tersedia dari: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110660>
 11. Yuan XL, Mao XX, Du YM, Yan PZ, Hou XD, Zhang ZF. Aktivitas anti-tumor diterpen tipe cembranoid yang diisolasi dari *Nicotiana tabacum* L. *Biomolekul*. 2019; 9(2).
 12. Lindeman NI, Cagle PT, Beasley MB, Chitale DA, Dacic S, Giaccone G, dkk. Pedoman pengujian molekuler untuk pemilihan pasien kanker paru-paru untuk penghambat tirosin kinase EGFR dan ALK: Pedoman dari College of American Pathologists, Asosiasi Internasional untuk Studi Kanker Paru-paru, dan Asosiasi Patologi Molekuler. *J Torak, Oncol*. 2013; 8(7):823–59.

