

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Daun Inggu



Gambar 1. Daun inggu (wikimedia.org)

Daun Inggu (*Ruta graveolens* L.) memiliki sistematika yang memiliki klasifikasi sebagai berikut :

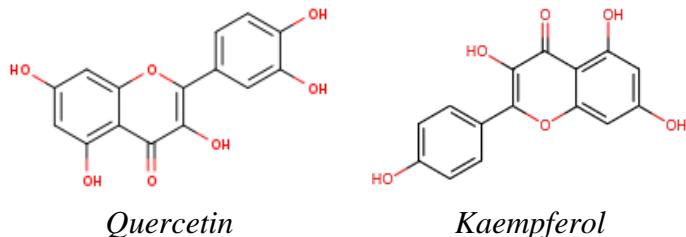
Kingdom : Plantae  
Subkingdom : Tracheobionta  
Super Divisi : Spermatophyta  
Divisi : Magnoliophyta  
Kelas : Magnoliopsida  
Sub kelas : Rosidae  
Ordo : Sapindales  
Famili : Rutaceae  
Genus : Ruta  
Spesies : *Ruta angustifolia* L. (USDA, 2014)

#### 1. Kandungan senyawa

Daun Inggu diketahui memiliki kandungan senyawa kimia utamanya pada kuersetin yang termasuk golongan flavonoid yang ditemukan di dalam tanaman daun inggu. Metabolisme sekunder utama yang dimiliki *R. graveolens* L. yaitu flavonoid, furanokumarin, lakton kumarin, alkaloid, dan minyak atsiri (Malik *et al.*, 2016)

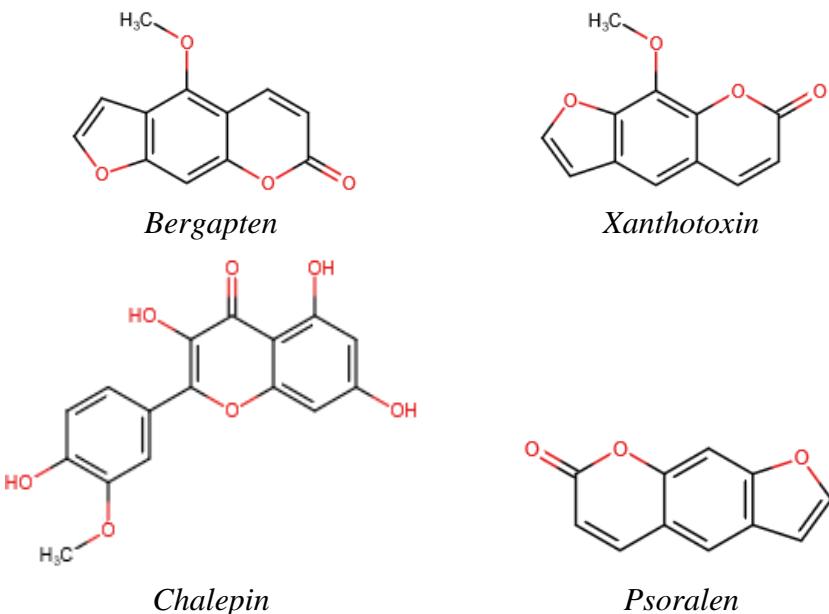
**1.1. Flavonoid.** Flavonoid merupakan senyawa fenolik dengan kerangka struktur C6-C3-C6 dengan dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh 3 rantai karbon alifatik. Senyawa golongan flavonoid yang terdapat dalam tanaman daun inggu yaitu *rutacridone*(Asgarpanah

& Khoshkam, 2012), *kaempferol*, *quercetin*, dan *isorhamnetin* (Malik *et al.*, 2016).



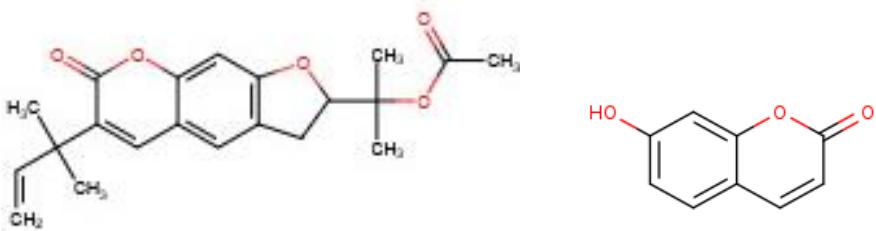
Gambar 2. Struktur kimia daun inggu golongan flavonoid (Chemaxon, 2024)

**1.2. Furanokumarin.** Furanokumarin merupakan senyawa organik yang memiliki struktur cincin yang memiliki rumus C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O (cincin furan) yang menyatu dengan kumarin. Senyawa golongan furanokumarin yang terdapat pada daun inggu *bergapten*, *xanthotoxin*, *psoralen* (Austin & Brown, 1973) dan *chalepin* (Richardson *et al.*, 2016).



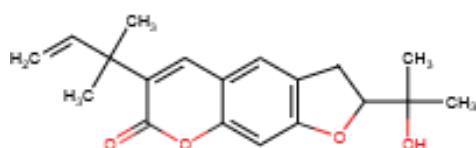
Gambar 3. Struktur kimia daun inggu golongan furanokumarin (Chemaxon, 2024)

**1.3. Lakton kumarin.** Lakton kumarin adalah struktur dasar senyawa golongan kumarin, yaitu cincin benzena dan cincin heterosiklik berisi oksigen (benzopiran) dengan gugus lakton. Senyawa lakton kumarin pada daun inggu yaitu *rutamarin* (Malinda & Pramayudi, 2023), dan *umbelliferone* (Malik *et al.*, 2016).



*Rutamarin* *Umbelliferone*  
**Gambar 4. Struktur kimia daun inggu golongan lakton kumarin (Chemaxon, 2024)**

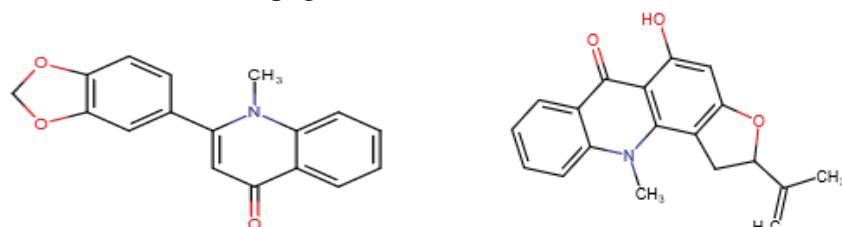
**1.4. Flavonol.** Flavonol adalah salah satu sub kelompok dari flavonoid yang memiliki gugus hidroksil pada posisi 3 dari kerangka flavonoid.



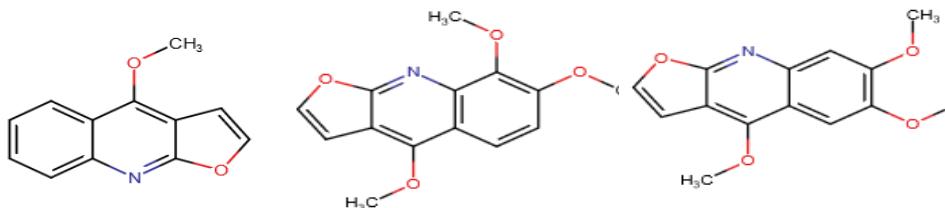
### *Isorhamnetin*

**Gambar 5. Struktur kimia daun inggu golongan flavonol (Chemaxon, 2024)**

**1.5. Alkaloid.** Alkaloid merupakan golongan senyawa metabolit sekunder yang umumnya memiliki sifat basa dengan struktur cincin heterosiklik yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen. Senyawa golongan alkaloid yang terdapat dalam tanaman daun inggu yaitu *dictamnine*, *graveoline*, *kokusaginine*, *skimmianine* (Malik *et al.*, 2016), *rutacridone* (Meepagala *et al.*, 2005)

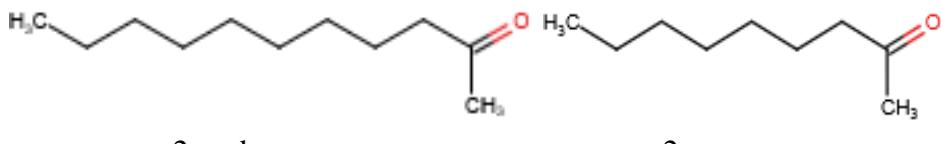


Graveoline



**Gambar 6. Struktur kimia daun jinggu golongan alkaloid (Chemaxon, 2024)**

**1.6. Minyak atsiri.** Minyak atsiri (*volatile oils*) merupakan zat berbau yang dihasilkan oleh tumbuhan. Bagian yang paling utama minyak atsiri pada *R. graveolens* L. yaitu *2-undecanone* dan *2-nonanone* (Soleimani *et al.*, 2009).



Gambar 7. Struktur kimia minyak atsiri daun inggu (Chemaxon, 2024)

## 2 Aktivitas farmakologi

Tanaman inggu berdasarkan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa ekstrak tanaman inggu (*Ruta graveolens*) diketahui dapat menghambat proliferasi dari sel kanker. Tanaman inggu yang memiliki peran dalam antikanker pada kulit ditunjukkan dengan adanya kandungan flavonoid rutin (*quercetin-3-β-rutinoside*) yang tinggi pada dosis 86,0 mg/g (Bimayana, 2018). Pada penelitian yang dilakukan oleh Rischa (2016) menyatakan bahwa ekstrak tanaman inggu menunjukkan berpengaruh terhadap derajat diferensiasi sel *adenocarcinoma mammae*, namun derajat diferensiasi sel tersebut dengan dosis masing-masing 8 mg/hari, 17 mg/hari, dan 34 mg/hari relatif sama. Selain itu, terdapat penelitian yang menguatkan bahwa tanaman *R. graveolens* memiliki potensi sebagai antikanker yang ditunjukkan pada penelitian dengan ekstrak etanol dari daun *R. graveolens* mengandung *silver nanoparticles* (*AgNPs*) sehingga merangsang proliferasi sel HeLa dan menghambat pertumbuhan HepG2. Ekstrak yang dihasilkan juga terbukti aman pada sel darah merah dan tidak menyebabkan peningkatan yang parah (Ghramh *et al.*, 2020).

## B. Daun Jambu Mete



**Gambar 8. Daun Jambu Mete (plantamor.com)**

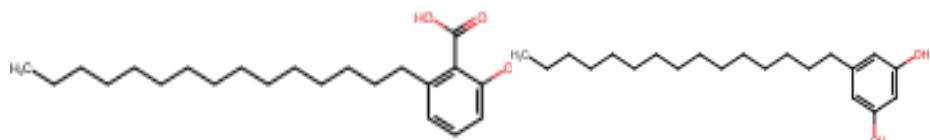
Jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) memiliki sistematika sebagai berikut:

Kingdom : Plantae  
 Subkingdom : Tracheobionta  
 Kingdom : Plantae  
 Subkingdom : Tracheobionta  
 Subdivisi : Spermatophyta  
 Divisi : Magnoliophyta  
 Kelas : Magnoliopsida  
 Subkelas : Rosidae  
 Ordo : Sapindales  
 Famili : Anacardiaceae  
 Genus : *Anacardium*  
 Spesies : *Anacardium occidentale* Linn. (USDA, 2014)

### 1. Kandungan senyawa

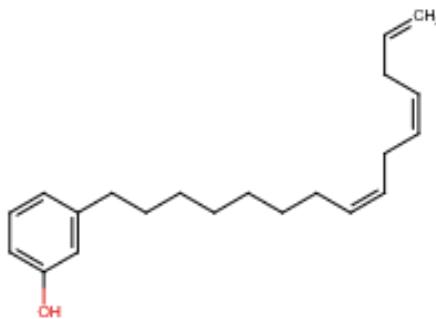
Daun jambu mete diketahui mengandung memiliki berbagai senyawa kimia, salah satunya senyawa kimia yang memiliki efek sebagai anti inflamasi, antioksidan dan antikanker. Kandungan senyawa kimia pada daun jambu mete yang berguna didapat melalui *web server KNAPSAcK* dan beberapa jurnal penelitian. Pada penelitian sebelumnya ekstrak daun jambu mete dilakukan pengujian skrining fitokimia yang menunjukkan terdapat kandungan senyawa fenolik, flavonoid, dan tanin (Astuty *et al.*, 2022). Senyawa kimia pada daun jambu mete tersebut dibagi menjadi empat sebagai berikut:

**1.1. Fenolik.** Senyawa fenolik merupakan senyawa aromatik dengan strukturnya diturunkan dari benzena sehingga memiliki cincin aromatik serta adanya satu atau lebih gugus hidroksil. Senyawa golongan fenolik dalam *A.occidentale* yaitu *anacardic acid*, *cardol*, *cardanol*, *anacardol* (Salehi *et al.*, 2019).



*Anacardic acid*

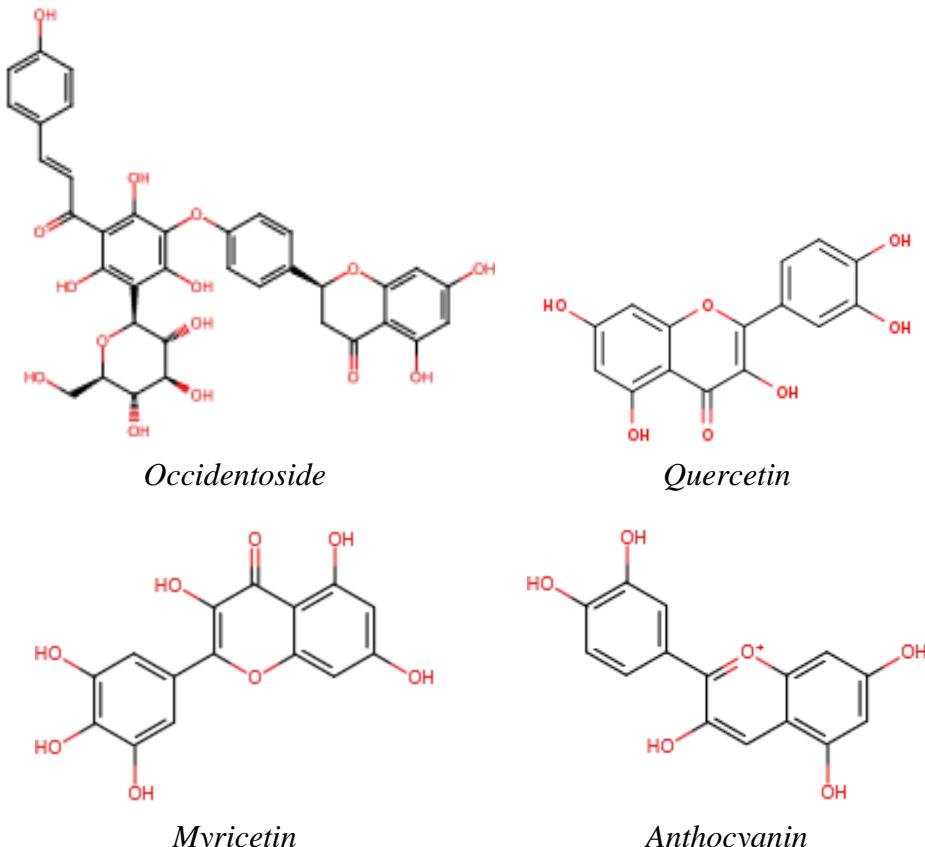
*Cardol*



*Cardanol*

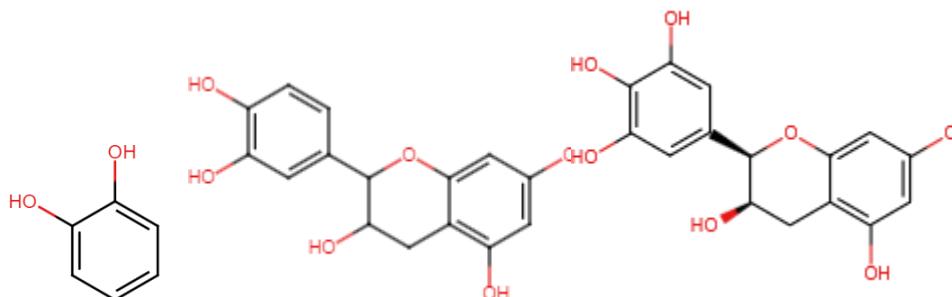
Gambar 9. Struktur kimia golongan fenolik daun jambu mete (Chemaxon, 2024).

**1.2. Flavonoid.** Flavonoid merupakan senyawa fenolik dengan kerangka struktur C6-C3-C6 dengan dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh 3 rantai karbon alifatik. Senyawa-senyawa golongan flavonoid pada daun jambu mete yaitu, *occidentoside*, *quercetin*, *myricetin*, dan *anthocyanin* (Salehi *et al.*, 2019).



Gambar 10. Senyawa kimia daun jambu mete golongan flavonoid (Chemaxon, 2024).

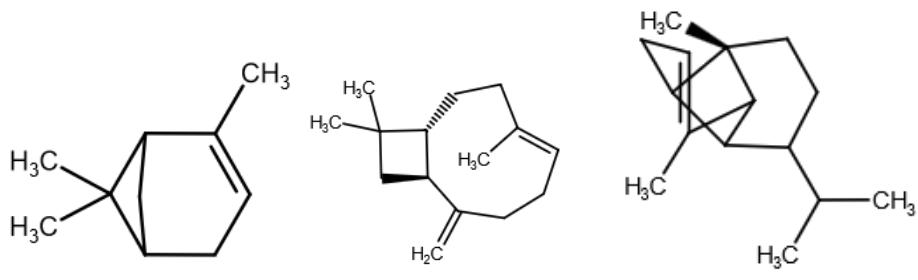
**1.3. Tanin.** Senyawa golongan tanin terdiri dari cincin benzena (C6) yang berikatan dengan gugus hidroksil (-OH). Senyawa golongan tanin dalam daun jambu mete mengandung senyawa golongan tanin jenis pyrocatechol (Sruthi & Naidu, 2023), *epicatechin*, *epigallocatechin* (Salehi *et al.*, 2019).



## Pirokatekol      Epicatechin      Epigallocatechin

**Gambar 11. Senyawa kimia daun jambu mete golongan tanin**

**1.4. Minyak atsiri.** Senyawa ini merupakan campuran kompleks dari berbagai senyawa kimia volatil. Senyawa minyak atsiri dalam daun jambu mete mengandung *alpha-pinene*, *beta-Caryophyllene*, dan *alpha-Ylangene* (Salehi *et al.*, 2019).



## *alpha*-Pinene      *beta*-Caryophyllene      *alpha*-Ylangene

**Gambar 12. Struktur kimia m**

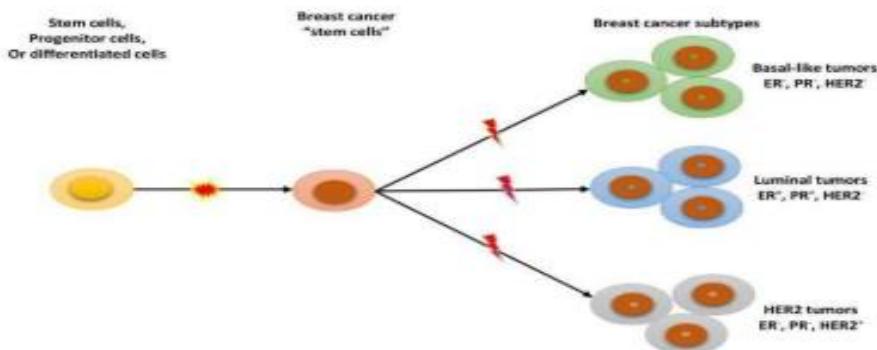
Daun jambu mete memiliki kandungan senyawa flavonoid yang berpotensi sebagai antikanker. Pada penelitian yang telah dilakukan (Faza, 2014) menyatakan bahwa ekstrak daun jambu mete berpengaruh terhadap proliferasi sel kanker payudara mencit galur C3H yang diinokulasi sel kanker payudara yang terdapat pada senyawa utama daun jambu mete yaitu tanin dan kuersetin. Selain itu, pada penelitian secara *in vitro* ekstrak methanol jambu mete menunjukkan adanya efek antiproliferatif yang jelas terhadap sel kanker payudara *Michigan Cancer Foundation-7* (Hikal *et al.*, 2017).

## C. Kanker Payudara (*Carcinoma Mammarae*)

### 1. Definisi

Kanker payudara (*Carcinoma mammae*) merupakan suatu penyakit keganasan pada jaringan payudara yang dapat berasal dari *epitel ductus* maupun *lobulus* (Kemenkes RI, 2018). Kanker payudara dimulai dalam sel-sel *lobulus* yang mengelompok menjadi suatu sel kanker kemudian dapat menyerang atau menyebar (*metastasis*) ke area lain di (NBCF, 2024). Kanker payudara memiliki dua tipe yang telah dicantumkan dalam pedoman yaitu invasif dan non-invasif. Pada tipe kanker payudara invasif atau ganas adalah kondisi ketika sel kanker menyebar hingga menembus jaringan payudara di sekitarnya atau organ tubuh lainnya. Sedangkan non-invasif atau *in situ* adalah kondisi sel kanker tumbuh dan menetap di lokasi asalnya dan tidak menyebar.

### 2. Patofisiologi

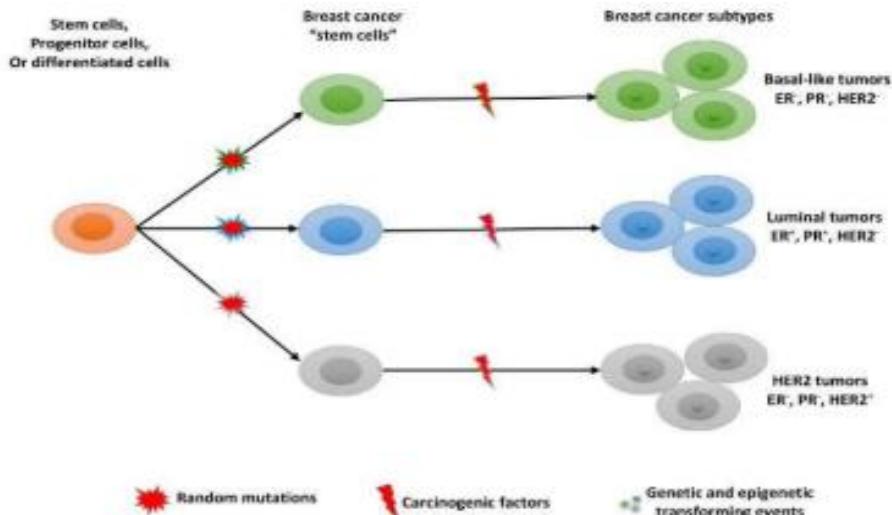


**Gambar 13. Patofisiologi kanker payudara teori sel induk kanker (Liambo et al., 2022).**

Patofisiologi kanker payudara pada fase awal adalah asimptomatis (tanpa adanya gejala dan tanda). Tanda dan gejala tindak lanjut adanya keterlibatan nodul dan terjadinya metastasis. Kanker payudara disebabkan oleh senyawa karsinogenik. Karsinogenesis merupakan proses terbentuknya sel-sel kanker melalui berbagai tahap. Karsinogenesis terjadi karena adanya akumulasi gangguan yang terjadi pada sejumlah gen yang terlibat dalam sistem siklus sel, signaling sel, diferensiasi sel, dan DNA repair. Karsinogen aktif memiliki sifat yang sangat reaktif dan mudah menyerang kelompok nukleofilik dalam DNA, RNA, dan protein, kemudian akan menyebabkan mutasi. Karsinogenesis dimulai dengan kerusakan atau mutasi gen p53. Gen p53 mengodekan protein p53 yang berfungsi sebagai protein penekan tumor. Gen p53 bermutasi mensintesis protein p53 mutant. Protein p53 mutan dalam serum pasien tumor meningkat dengan tingkat bahaya

penyakit, sehingga dapat digunakan sebagai biomarker awal tumor (Liambo *et al.*, 2022).

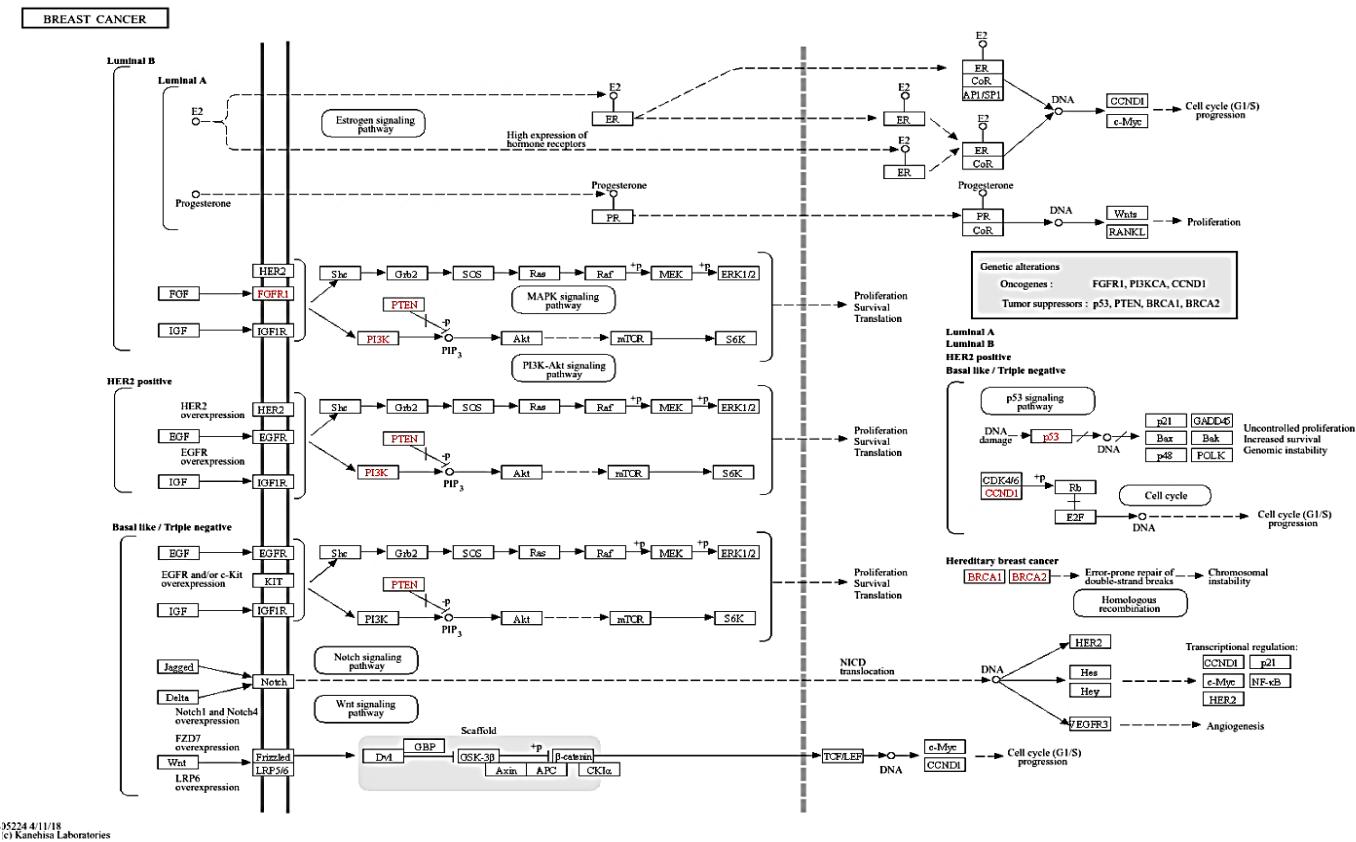
Kanker payudara bisa bersifat herediter atau sporadis. Mutasi yang paling sering dikaitkan dengan kanker herediter termasuk mutasi yang mempengaruhi gen *DNA damage repair* (DDR), yang paling penting adalah mutasi pada gen *BRCA1*, *BRCA2*, dan *TP53* (Melchor & Benítez, 2013). Jalur utama pada kanker payudara yaitu *HER2* (*Human Epidermal Growth Factor Receptor 2*) dan *ER* (*Estrogen Receptor*).



**Gambar 14. Patofisiologi kanker payudara teori stokastik (Liambo *et al.*, 2022)**

#### **D. Pathway Disease Kanker Payudara**

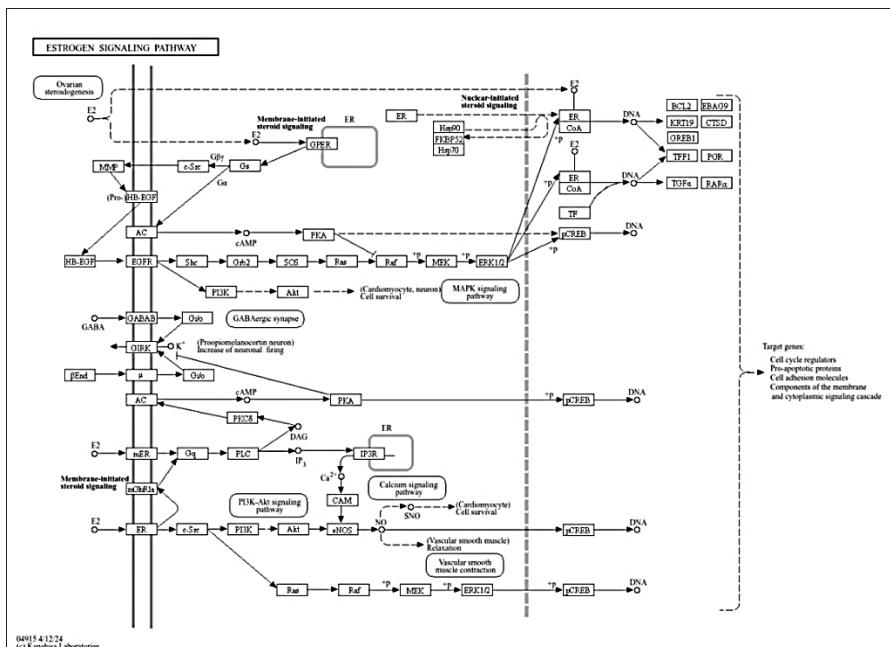
Jalur patofisiologi Kanker Payudara terlihat pada *KEGG Pathway* yang melibatkan protein-protein seperti pada gambar 15. Terdapat enam jalur yang memengaruhi patofisiologi dari kanker payudara yaitu *estrogen signaling pathway*, *MAPK signaling pathway*, *PI3K-Akt signaling pathway*, *p53 signaling pathway*, *Notch signaling pathway*, dan *Wnt signaling pathway*. Banyaknya jalur perlintasan pada kanker payudara maka pada penelitian akan berfokus pada *PI3K-Akt signaling pathway* dan *p53 signaling pathway* (Alotaibi *et al.*, 2023). Hal itu dikarenakan adanya mekanisme obat yang dimiliki oleh obat antikanker menargetkan pada kedua jalur tersebut.



**Gambar 15. Jalur patofisiologi kanker payudara (KEGG pathway, 2024)**

## 1. Estrogen signaling pathway

Estrogen adalah hormon steroid yang mengatur banyak proses fisiologis pada mamalia, seperti reproduksi, *cardiovascular protection*, *bone integrity*, dan *cellular homeostasis*. Efek biologis estrogen dimediasi melalui reseptor estrogen (ER)  $\alpha$  dan  $\beta$ . Reseptor tersebut bertindak sebagai faktor transkripsi yang diaktifkan oleh ligan. Mekanisme *estrogen receptor* (ER) secara umum melibatkan pengikatan estrogen ke reseptor di nukleus, kemudian reseptor yang semula memiliki dua molekul sejenis digabungkan menjadi satu molekul yang lebih besar dan mengikat elemen respons spesifik yang dikenal sebagai *estrogen response elements* (EREs) yang terletak pada promotor gen target. Pengikatan hormon juga menginduksi perubahan bentuk molekul sesaat (konformasi) dalam domain pengikatan ligan reseptor, dan perubahan konformasi ini memungkinkan protein koaktivator untuk direkrut.



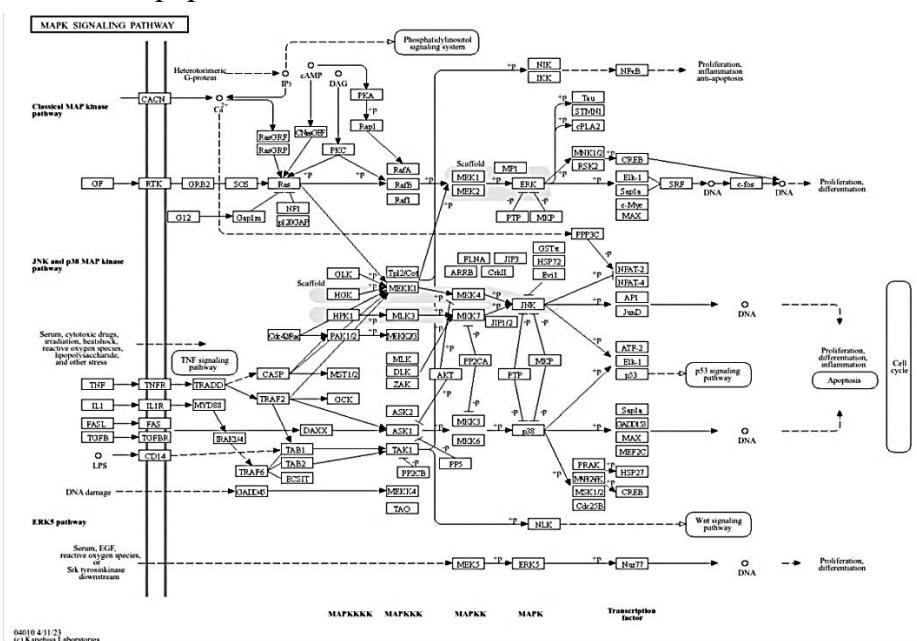
**Gambar 16. Estrogen signaling pathway (KEGG pathway, 2024).**

Namun, ER juga dapat mengatur ekspresi gen tanpa mengikat DNA secara langsung. Hal ini terjadi melalui interaksi protein-protein dengan faktor transkripsi pengikat DNA lainnya di dalam nukleus. Dalam jalur membran, estrogen dapat mengerahkan aksinya melalui sub-populasi ER di membran plasma (mER) atau reseptor E2 berpasangan *G protein-coupled estrogen receptor 1* (GPER). Reseptor tersebut aktif menghasilkan berbagai jalur pensinyalan seperti  $\text{Ca}^{2+}$ ,

cyclic adenosin monofosfat (cAMP), mitogen-activated protein kinase (MAPK) dengan cepat diaktifkan dan pada akhirnya mempengaruhi faktor transkripsi hilir (lihat Gambar 16).

## 2. MAPK signaling pathway

Jalur persinyalan *mitogen-activated protein kinase* (MAPK) dibagi menjadi empat kaskade yang berbeda, yaitu *extracellular signal-related kinases* (ERK1/2), *Jun amino-terminal kinase* (JNK1/2/3), p38-MAPK, dan ERK5. Jalur *mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase* (MAPK/ERK) terbukti memiliki hubungan dengan proliferasi sel, diferensiasi, migrasi, respon stress, dan apoptosis

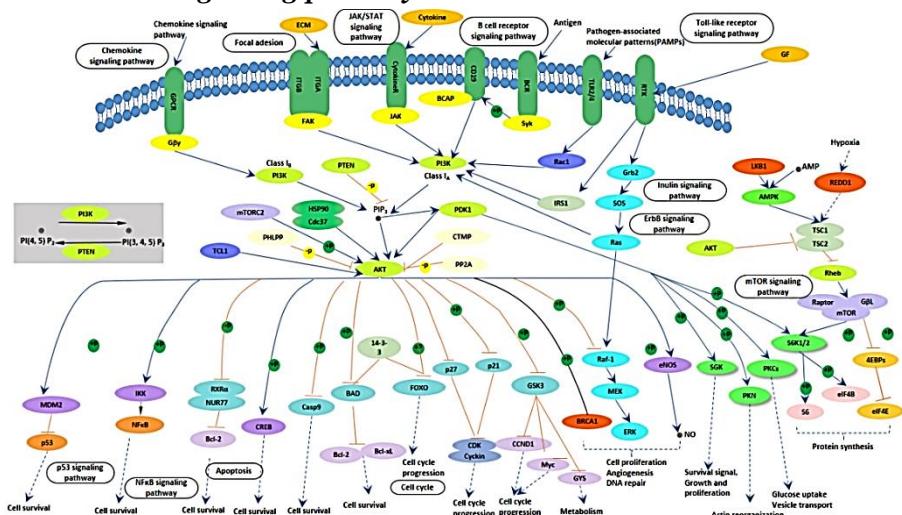


Gambar 17. MAPK signaling pathway (KEGG pathway, 2024).

Jalur pensinyalan MAPK yang melibatkan serangkaian kaskade protein kinase memainkan peran penting dalam pengaturan proliferasi sel pada organisme multiseluler dimana faktor utamanya diatur oleh faktor pertumbuhan eksternal yang disediakan oleh sel-sel di sekitarnya. Jalur MAPK Pada jalur *extracellular signal-related kinases* (ERK) merupakan kaskade yang paling berkarakteristik dan kaskade Raf-MEK-ERK merupakan salah satu yang paling berkarakteristik. ERK dapat ditranslokasi ke nukleus dan memfosforilasi berbagai faktor transkripsi, termasuk *transcription factor* (TCF) *Elk-1*, protein aksesoris faktor respons serum *Sap-1a*, *Ets1*, *c-Myc*, *Tal*, dan lainnya. Keluarga ERK klasik (*p42/44 MAPK*) diketahui menjadi titik

pemeriksaan intraseluler untuk mitogenesis seluler. Dalam garis sel yang dikultur, stimulasi mitogen oleh faktor pertumbuhan berkorelasi dengan stimulasi kinase p42/44 MAP. Kaskade *Jun amino-terminal kinases* (JNK) terdapat tiga gen yang mengodekan yaitu JNK ( $\alpha$ ,  $\beta$  dan  $\gamma$ ) dengan 12 isoform yang mungkin berasal dari produk penyambungan alternatif. JNK dapat mengikat domain aktivasi NH2-terminal dari *c-Jun* dan memfosforilasi *c-Jun* pada Ser-63 dan Ser-73. Transaktivasi *c-Jun* menyebabkan peningkatan promotor ekspresi gen dengan situs AP-1. Transaktivasi *c-Jun* memainkan peran penting dalam proses ini. Aktivasi kaskade JNK dikaitkan dengan transformasi dalam banyak jalur yang dimediasi onkogen dan faktor pertumbuhan, hal tersebut terlibat dalam apoptosis dan pensinyalan kelangsungan hidup (lihat Gambar 17).

### 3. PI3K-Akt signaling pathway



Gambar 18. PI3K/Akt signaling pathway (Cusabio, 2024).

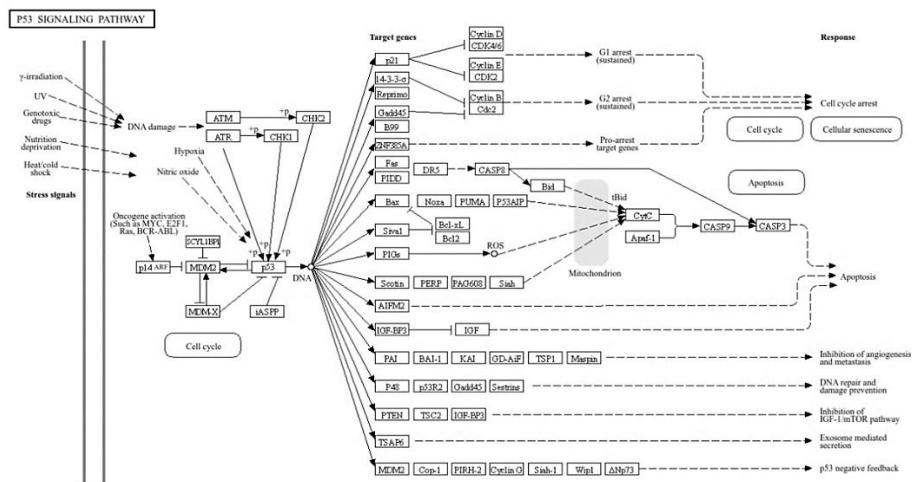
Jalur PI3K/Akt telah teridentifikasi dua mutasi yang dapat meningkatkan aktivitas kinase intrinsik pada kanker. Frekuensi disregulasi sinyal Akt yang berkontribusi pada penyakit manusia telah memuncak dalam pengembangan agresif penghambat molekul kecil PI3K dan Akt.

AKT mengatur pertumbuhan sel melalui efeknya pada kompleks *TSC1/TSC2* dan pensinyalan *mTORC*. AKT berkontribusi pada proliferasi sel melalui fosforilasi penghambat *CDK p21* dan *p27*. Akt adalah mediator utama kelangsungan hidup sel melalui penghambatan langsung protein pro-apoptotik yang dihasilkan oleh faktor transkripsi seperti *FoxO*. AKT terlibat secara kritis dalam

regulasi metabolisme melalui aktivasi *AS160* dan *PFKFB2*. Selain itu, AKT telah terbukti mengatur protein yang terlibat dalam fungsi neuronal termasuk reseptor *GABA*, *ataxin-1* dan *protein huntingtin*. AKT berkontribusi pada migrasi dan invasi sel melalui fosforilasi *palladium* dan *vimentin*. AKT juga mengatur pensinyalan *NF- $\kappa$ B* dengan memfosforilasi *IKK $\alpha$*  dan *Tpl2*. Karena peran penting AKT dalam mengatur berbagai fungsi seluler, AKT merupakan target terapi penting untuk pengobatan penyakit manusia (lihat Gambar 18.)

#### 4. p53 signaling pathway

P53 mengendalikan berbagai jaringan persinyalan, dan memiliki respons yang sangat flexible dan serbaguna dengan respons yang baik terhadap gangguan lingkungan yang menentukan kematian sel atau mempertahankan homeostasis sel. P53 berfungsi sebagai titik penghubung untuk berbagai jalur pensinyalan sel secara harmonis dan hati-hati dalam mengatur berbagai fungsi biologis melalui regulasi transkripsi dan interaksi protein-protein.



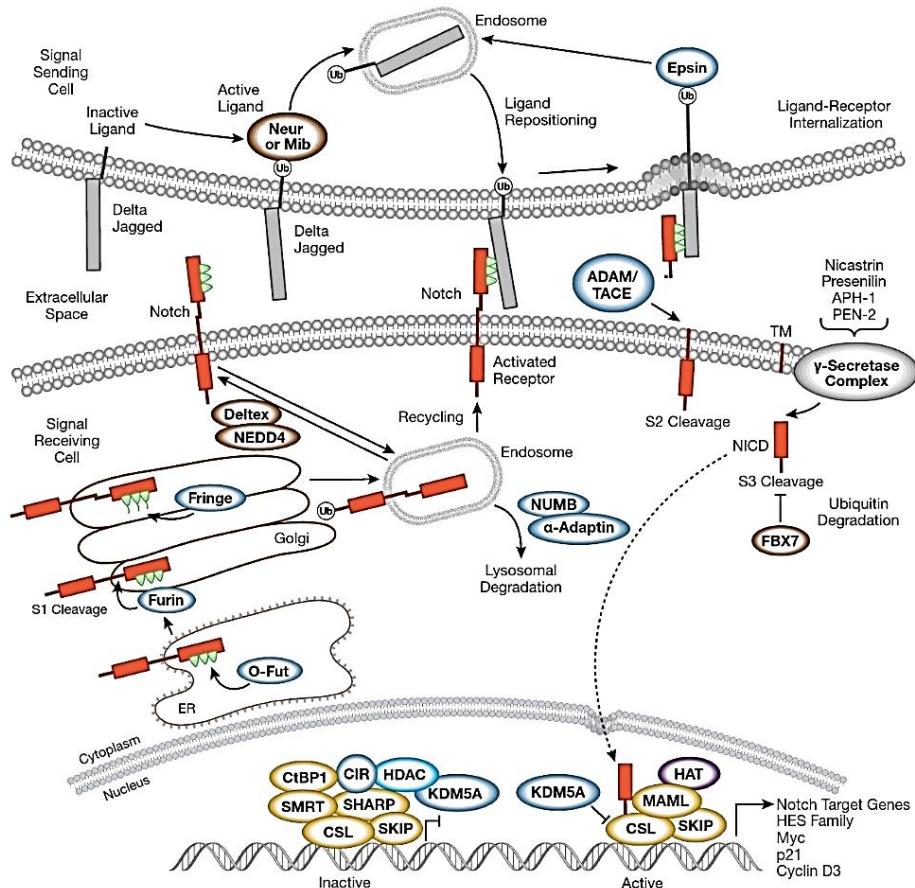
**Gambar 19. *p53 signaling pathway (KEGG Pathway)*.**

Pada *p53 signaling pathway*, aktivasi protein 53 (P53) diinduksi oleh sejumlah sinyal stres, termasuk kerusakan DNA, stres oksidatif, dan onkogen teraktivasi. Faktor penyebab terjadinya sinyal stress seperti radiasi ultraviolet (UV), radiasi ionisasi ( *$\gamma$ -irradiation*), obat genotoksik, dan stress oksidatif (*nutrition deprivation* ataupun *heat/cold shock*). P53 adalah faktor transkripsi gen yang didistribusikan dalam nukleus dan sitoplasma dengan mengikat secara spesifik ke DNA. P53 umumnya memiliki kadar protein yang rendah karena adanya kontrol ketat oleh regulator negatif MDM2 dan MDMX yang mendorong degradasi P53 melalui *ubiquitinasi*. Namun, jika P53

terpapar sinyal stres maka P53 akan menghasilkan tiga keluaran utama seperti penghentian siklus sel, penuaan sel atau *apoptosis* sehingga dapat menyebabkan pelepasan P53 dari inhibitorynya, MDM2 (*mouse double Minute 2*). Setelah dilepaskan, P53 berikatan dengan DNA dan mendorong transkripsi gen yang menyebabkan penghentian siklus sel atau *apoptosis*. Penangkapan siklus sel ini memungkinkan sel-sel yang rusak dapat memperbaiki DNA mereka sebelum bereplikasi, sedangkan *apoptosis* adalah proses kematian sel terprogram yang mencegah sel-sel rusak bereplikasi dan menyebarkan mutasi. Adanya kontrol ketat oleh regulator negatif MDM2 (*mouse double Minute 2*) dan MDMX yang menghambat aktivitas transkripsi *p53* dan mendorong degradasinya. Namun, sebagai respons terhadap stres seluler atau kerusakan DNA, terganggunya interaksi *p53* dan *MDM2* yang menyebabkan stabilisasi dan aktivasi P53. Berbagai modifikasi pasca-translasi, seperti fosforilasi, asetilasi, dan metilasi, selanjutnya memodulasi aktivitas P53 dengan mempengaruhi stabilitasnya, afinitas pengikatan DNA, interaksi dengan pengatur bersama, dan spesifitas gen target. Protein dan jalur lain, termasuk *ATM* (*ataxia telangiectasia mutated*), *ATR* (*ataxia telangiectasia and Rad3-related*), dan *p14ARF* (*alternative reading frame*), dan juga berkontribusi terhadap regulasi *p53* pada sinyal stres seluler dan mengaktifkan atau menstabilkan *p53*. (lihat Gambar 19).

### 5. *Notch signaling pathway*

Pensinyalan Notch adalah jalur yang dilestarikan secara evolusioner pada organisme multiseluler yang mengatur penentuan nasib sel selama perkembangan dan mempertahankan homeostasis jaringan dewasa. Jalur Notch memediasi *juxtacrine signaling* di mana sel pengirim dan penerima sinyal dipengaruhi melalui interaksi ligan-reseptor yang dengannya serangkaian keputusan nasib sel dalam perkembangan neuronal, jantung, imun, dan endokrin diatur.



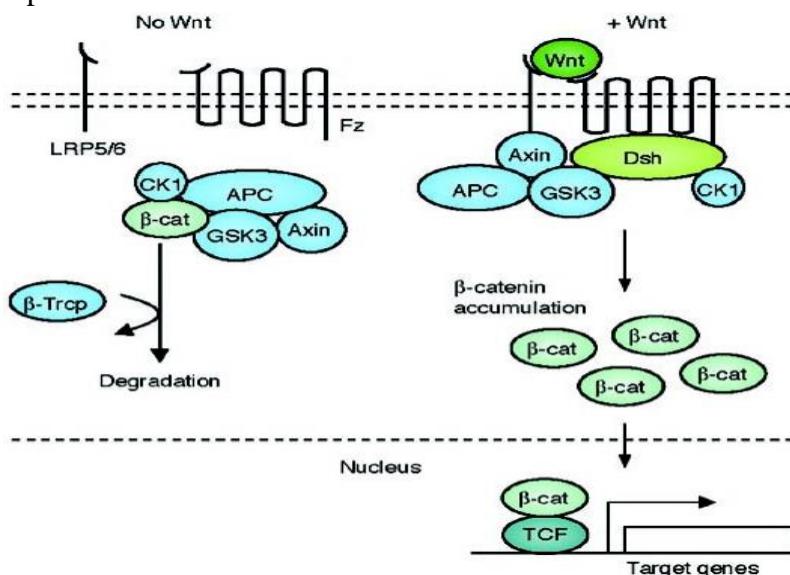
**Gambar 20. Notch signaling pathway (Cell Signaling Technology, 2024).**

Reseptor Notch adalah protein transmembran lintasan tunggal yang terdiri dari *notch extracellular domain* (NECD), *transmembrane* (TM), dan *notch intracellular domain* (NICD). Reseptor notch diproses di ER dan Golgi dalam sel penerima sinyal melalui pembelahan dan glikosilasi, menghasilkan heterodimer yang distabilkan  $Ca^{2+}$  yang terdiri dari NECD yang melekat secara non-kovalen pada TM dengan NICD yang dimasukkan ke dalam membran (pembelahan 1). Reseptor yang diproses kemudian diangkat endosom ke membran plasma untuk pengikatan ligan dengan cara yang diatur oleh *Deltex* dan dihambat oleh NUMB. Pada sel pengirim sinyal seperti anggota keluarga mirip *Delta* (DLL1, DLL3, DLL4) dan *Jagged* (JAG1, JAG2) berfungsi sebagai ligan untuk reseptor pensinyalan Notch. Pengikatan ligan, NECD dibelah (pembelahan 2) dari TM dengan NICD oleh TACE (enzim pengubah *metalloprotease TNF- $\alpha$  ADAM*). NECD tetap terikat pada ligan dan kompleks ini mengalami endositosis/daur ulang di dalam sel pengirim sinyal dengan cara yang bergantung pada

*ubiquitinasi* oleh Mib. Pada sel penerima sinyal,  $\gamma$ -*secretase* (terlibat dalam penyakit Alzheimer) melepaskan NICD dari TM (pembelahan 3), yang memungkinkan translokasi nuklir tempat ia berasosiasi dengan kompleks faktor transkripsi CSL (*CBF1/Su(H)/Lag-1*), yang menghasilkan aktivasi berikutnya dari gen target *Notch canonic*: *Myc*, *p21*, dan anggota keluarga HES (lihat Gambar 20).

## 6. *Wnt signaling pathway*

*Wnt signaling pathway* merupakan jalur kuno dan terpelihara secara evolusi yang mengatur aspek penting penentuan nasib sel, migrasi sel, polaritas sel, pola saraf, dan organogenesis selama perkembangan embrio. *Wnt* merupakan glikoprotein yang disekresikan dan terdiri dari 19 protein pada manusia yang menunjukkan kompleksitas yang berbahaya dari regulasi, fungsi, dan keluaran biologis pensinyalan. Protein *Wnt* mengatur serangkaian proses seluler yang sulit dipahami termasuk penentuan nasib sel, motilitas, polaritas, pembentukan sumbu primer dan organogenesis, jalur ini telah terlibat dalam pembaruan sel induk.



Gambar 21. *Wnt signaling pathway* (Bundy et al., 2021)

Protein *Wnt* adalah glikoprotein yang disekresikan yang mengikat domain ekstraseluler kaya sistein N-terminal dari keluarga reseptor *Frizzled* (*Fz*) yang terdapat 10 *Fz* pada manusia. Selain interaksi antara *Wnt* dan *Fz*, *co-receptor* juga diperlukan untuk memediasi pensinyalan *Wnt*. Misalnya protein terkait *Lipoprotein Receptor-related Protein 5/6* (LRP5/6) diperlukan untuk memediasi sinyal *Wnt* kanonik. Setelah pengikatan *Wnt* ke kompleks reseptor,

sinyal dilakukan transduksi ke fosfoprotein sitoplasma *Disheveled* (*Dsh/Dvl*), dan penelitian sebelumnya telah mengungkap bahwa *Dsh* dapat berinteraksi langsung dengan *Fz*. Pada tahap *Dsh*, sinyal *Wnt* bercabang menjadi setidaknya tiga kaskade utama yaitu kanonik, polaritas sel planar, dan *Wnt/Ca<sup>2+</sup>*. *Dsh* merupakan komponen hilir penting dari jalur transduksi ini dan merupakan protein sitoplasma pertama yang terlibat secara penting dalam ketiga cabang utama pensinyalan *Wnt* (lihat Gambar 21).

### **E. Obat Kanker Payudara**

Penatalaksanaan kanker payudara secara umum pada tumor primer yang baru dengan tujuan kuratif dan tata laksana secara spesifik berdasarkan subtipe dari kanker payudara yang meliputi terapi hormonal, anti-HER2, kemoterapi, dan terapi (Kurniawan & Prayogo, 2012). Kanker payudara memiliki pengobatan yang berbeda-beda, tergantung pada tipe, tahap, dimensi tumor, serta reseptivitas sel kanker terhadap hormon.

#### **1. Terapi hormonal**

Terapi hormonal dilakukan jika terdapat sel reseptor yang memakan estrogen atau progesteron, sehingga merangsang pertumbuhan sel kanker yang dianggap reseptor estrogen positif (*ER+*), reseptor progesteron positif (*PR+*), atau keduanya (*ER/EP+*) (National Breast Cancer Foundation, 2024). Terapi hormon bekerja dengan menurunkan jumlah hormon dalam tubuh atau menghalanginya mencapai sel kanker payudara (Kurniawan & Prayogo, 2012). Terapi hormon juga dikenal sebagai terapi endokrin. Oleh karena itu adanya rekomendasi obat terapi hormon sebagai yaitu *selective estrogen receptor modulators* (*SERM*) seperti tamoksifen, toremifene. Terapi reseptor *estrogen down regulator* seperti fulvestrant; analog *Luteinizing Hormone-releasing hormone* (*LH-RH*) seperti goserelin, leuprorelin; *aromatase inhibitors* generasi tiga yang non-steroidal seperti anastrozole, letrozole, golongan steroidal exemestane; golongan progestins seperti medroksiprogesteron asetat, megestrol acetate; serta golongan steroid anabolik seperti nandrolone dekanoat. Untuk terapi hormonal lini kedua meliputi tamoxifen, aromatase inhibitor generasi ketiga, fulvestrant, megestrol asetat, dan androgen (Kurniawan & Prayogo, 2012).

## 2. Anti-HER2

Anti-HER2 seharusnya diberikan kepada pasien kanker payudara pada lini pertama dengan trastuzumab dan tanpa tindakan kemoterapi, tetapi perlu adanya pemantauan fungsi jantung yang dilakukan sebelum dan selama terapi berlangsung (Kurniawan & Prayogo, 2012). Setelah terapi lini pertama dengan trastuzumab memberikan efikasi yang relatif superior untuk terapi berbasis *HER2* lain di lini kedua (kombinasi lapatinib dan capecitabine). T-DM1 (trastuzumab emtansine) seharusnya lebih disukai pada pasien yang telah progresif setelah pemberian trastuzumab, karena memberikan manfaat pada *overall survival* atau masa bertahan hidup yang lebih besar. Namun penggunaan obat T-DM1 tidak memiliki data yang tercantum setelah blokade ganda dengan trastuzumab-pertuzumab (*LoE IA*). Dalam kasus progresif pada terapi penggunaan obat trastuzumab, kombinasi trastuzumab dan lapatinib merupakan pilihan yang rasional untuk beberapa pasien. Namun, tidak ada data tentang efikasi penggunaan kombinasi ini pada kasus yang progresif setelah pertuzumab atau T-DM1 (trastuzumab emtansine) (*LoE IB*) (Ashariati, 2019).

## 3. Kemoterapi

Kemoterapi termasuk terapi pengobatan utama yang biasanya digunakan oleh penderita kanker payudara pada kasus stadium lanjut yang telah menyebar ke bagian tubuh lain. Salah satu jenis obat kemoterapi yang digunakan adalah obat golongan antrasiklin. Antrasiklin adalah agen kemoterapi yang digunakan untuk mengobati berbagai jenis kanker, termasuk kanker payudara. Antrasiklin ini merupakan suatu bahan yang dapat bekerja melawan tumor melalui berbagai mekanisme, seperti menghambat kerja topoisomerase II, pelepasan histon dari kromatin, serta pembentukan radikal bebas berbasis zat besi. Meskipun antrasiklin merupakan terapi yang efektif dan umum digunakan, namun penggunaannya harus dibatasi dan diberikan dengan seksama oleh karena efek kardiotoksitasnya (merusak sel otot jantung) (Wihandono *et al.*, 2021). Obat yang termasuk golongan antrasiklin yaitu doksorubisin, epirubisin, daunorubisin, dan mitoxantrone.

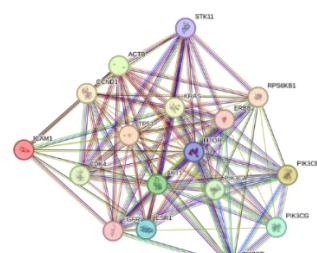
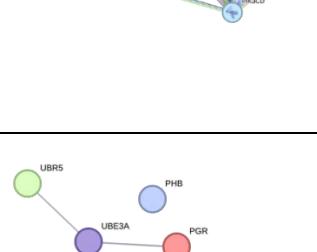
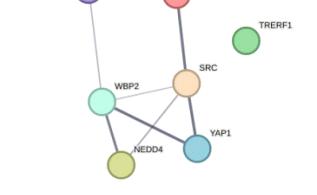
## 4. Terapi target

Obat terapi target dikelompokan secara klinis yang telah terbukti manfaatnya, yaitu antibodi monoklonal dan molekul kecil yang menghambat jalur tirosin kinase (Beuvink *et al.*, 2005). Antibodi monoklonal adalah protein sistem kekebalan yang relatif besar dan

umumnya tidak dapat masuk ke sel, sehingga hanya digunakan untuk target yang berada di luar sel atau di permukaan sel, seperti trastuzumab (Herceptin).

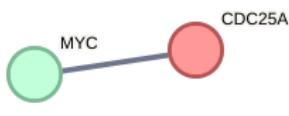
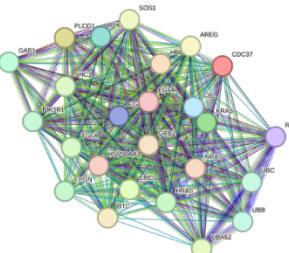
## F. Protein Target Kanker Payudara

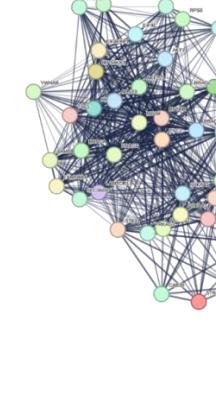
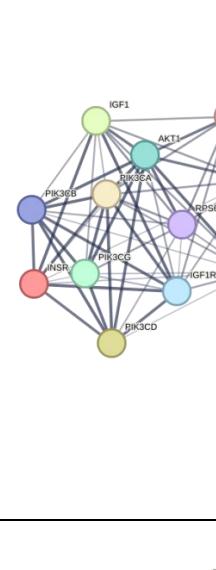
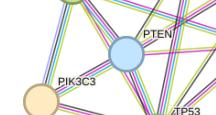
Protein target yang terlibat dalam kanker payudara pada subtipe luminal A pada jalur ditemukan pada jalur hormon *estrogen receptor* (ER) dan *progesteron receptor* (PR), kanker subtipe *human epidermal growth factor receptor 2* (HER2) pada jalur MAPK, dan kanker subtipe *Triple Negative Breast Cancer* (TNBC) pada jalur PI3K/AKT/mTOR.

Jalur patofisiologi dan protein target	Interaksi protein-protein target
<b>A. Estrogen Receptor (ER)</b> <i>Estrogen receptor</i> memiliki peranan penting dalam mengatur proliferasi, diferensiasi, dan kelangsungan hidup sel pada kanker payudara. Estrogen dapat timbul dari testosterone di jaringan perifer mempunyai dampak signifikan terhadap sintesis estrogen pada wanita pasca-menopause (Arun <i>et al.</i> , 2022).	
<b>1. Estrogen Receptor (ESR1)</b> Hormon steroid dan reseptornya terlibat dalam regulasi ekspresi gen eukariotik dan memengaruhi proliferasi dan diferensiasi sel pada jaringan target. Transaktivasi nuklir yang bergantung pada ligan melibatkan pengikatan homodimer langsung ke rangkaian elemen respons estrogen palindromik (ERE) atau hubungan dengan faktor transkripsi pengikat DNA lainnya, seperti AP-1/c-Jun, c-Fos, ATF-2, Sp1 dan Sp3, untuk memediasi pensinyalan ERE-independen (String, 2023).	
<b>2. Progesteron Receptor (PGR)</b> Reseptor progesteron terlibat dalam regulasi ekspresi gen eukariotik dan memengaruhi proliferasi dan diferensiasi sel pada jaringan target. Tergantung pada isoformnya, reseptor progesteron berfungsi sebagai aktivator atau penekan transkripsi. [Isoform B]: Aktivator transkripsional dari beberapa promotor yang bergantung pada progesteron	



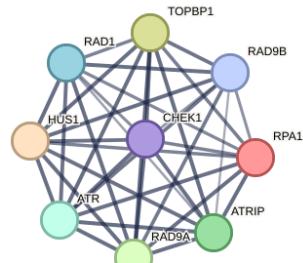
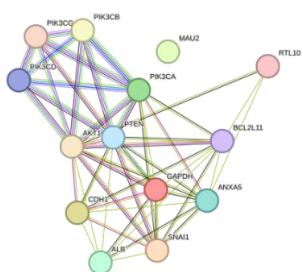
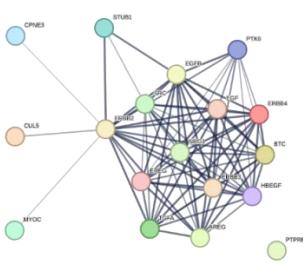
Jalur patofisiologi dan protein target	Interaksi protein-protein target
<b>5. Nuclear Receptor Coactivator 1 (NCOA1)</b>	
<p><i>Nuclear Receptor Coactivator 1</i> secara langsung mengikat reseptor nuklir dan menstimulasi aktivitas transkripsional dengan cara yang bergantung pada hormon. Terlibat dalam koaktivasi berbagai reseptor nuklir, seperti steroid (PGR, GR dan ER), retinoid (RXRs), hormon tiroid (TRs) dan prostanoids (PPARs). Juga terlibat dalam koaktivasi yang dimediasi oleh faktor transkripsi STAT3, STAT5A, STAT5B dan STAT6. Menampilkan aktivitas histon asetyltransferase terhadap H3 dan H4; relevansi kegiatan tersebut masih belum jelas (String, 2023).</p>	<pre> graph TD     NCOA1((NCOA1)) --- NCOA2((NCOA2))     NCOA1 --- NCOA3((NCOA3))   </pre>
<b>6. Insulin-like Growth Factor Binding Protein 1 (IGFBP1)</b>	
<p>Protein ini mengikat <i>IGF</i> memperpanjang waktu paruh <i>IGF</i> dan telah terbukti menghambat atau menstimulasi efek pemacu pertumbuhan <i>IGF</i> pada kultur sel. Mereka mengubah interaksi <i>IGF</i> dengan reseptor permukaan selnya. Mempromosikan migrasi sel (String, 2023).</p>	
<b>7. Fibroblast Growth Factor Receptor 3 (FGFR3)</b>	
<p>Tirosin-protein kinase yang bertindak sebagai reseptor permukaan sel untuk faktor pertumbuhan fibroblast dan memainkan peran penting dalam regulasi proliferasi, diferensiasi, dan <i>apoptosis</i> sel. Memainkan peran penting dalam regulasi diferensiasi kondrosit, proliferasi dan <i>apoptosis</i>, dan diperlukan untuk perkembangan kerangka normal. Mengatur osteogenesis dan mineralisasi tulang pasca-kelahiran oleh osteoblas. Mempromosikan <i>apoptosis</i> pada kondrosit, tetapi juga dapat meningkatkan proliferasi sel kanker. Diperlukan untuk perkembangan normal telinga bagian dalam (String, 2023).</p>	

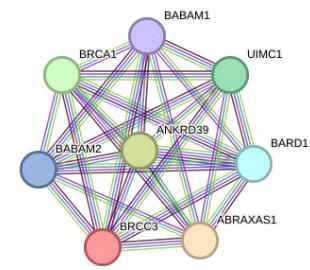
Jalur patofisiologi dan protein target	Interaksi protein-protein target
<p><b>8. Myc Proto-oncogene protein (c-Myc)</b></p> <p>Faktor transkripsi yang mengikat DNA secara non-spesifik, namun juga secara spesifik mengenali urutan inti 5'-CAC[GA]TG-3'. Mengaktifkan transkripsi gen terkait pertumbuhan. Mengikat promotor VEGFA, mendorong produksi VEGFA dan pertumbuhan angiogenesis berikutnya. Pengatur pemrograman ulang somatik, mengontrol pembaharuan diri sel induk embrio. Berfungsi dengan TAF6L untuk mengaktifkan ekspresi gen target melalui pelepasan jeda RNA polimerase II (Dengan kesamaan) (String, 2023).</p>	
<p><b>B. Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Positive (HER2+)</b></p> <p>HER2 adalah reseptor tirosin kinase yang termasuk dalam keluarga <i>Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR)</i>. Karakteristik HER2 pada kanker payudara menghasilkan efek hilir pada peningkatan proliferasi sel dan peningkatan yang diamati melalui fenotip klinis yang agresif (Arun, Cahill, &amp; Marcato, 2022).</p> <p><b>1. Epidermal Growth Factor Receptors (EGFR)</b></p> <p>Ligan pengikat reseptor tirosin kinase dari keluarga EGF dan mengaktifkan beberapa kaskade sinyal untuk mengubah isyarat ekstraseluler menjadi respons seluler yang sesuai. Ligan yang diketahui termasuk EGF, TGFA/TGF-alpha, AREG, epigen/EPGN, BTC/betacellulin, epiregulin/EREG dan HBEGF/EGF pengikat heparin. Pengikatan ligan memicu homo- dan/atau heterodimerisasi reseptor dan autofosforilasi pada residu sitoplasma utama. Reseptor terfosforilasi merekrut protein adaptor seperti GRB2 yang pada gilirannya mengaktifkan kaskade sinyal hilir yang kompleks. (String, 2023).</p>	

Jalur patofisiologi dan protein target	Interaksi protein-protein target
<h2>2. Mammalian Target of Rapamycin (mTOR)</h2>	
<p>Protein kinase serin/treonin yang merupakan pengatur utama metabolisme sel, pertumbuhan dan kelangsungan hidup sebagai respons terhadap hormon, faktor pertumbuhan, nutrisi, energi, dan sinyal stres. MTOR secara langsung atau tidak langsung mengatur fosforilasi setidaknya 800 protein. Berfungsi sebagai bagian dari 2 kompleks pensinyalan yang berbeda secara struktural dan fungsional mTORC1 dan mTORC2 (kompleks mTOR 1 dan 2). MTORC1 yang teraktivasi mengatur sintesis protein dengan memfosforilasi pengatur utama translasi mRNA dan sintesis ribosom (String, 2023).</p>	
<h2>3. Insulin-like Growth Factor 1 Receptor (IGFR1)</h2>	
<p>Reseptor tirozin kinase yang memediasi aksi faktor pertumbuhan mirip insulin 1 (IGF1). Mengikat IGF1 dengan afinitas tinggi dan IGF2 dan insulin (INS) dengan afinitas lebih rendah. IGF1R yang diaktifkan terlibat dalam pertumbuhan sel dan kontrol kelangsungan hidup. IGF1R sangat penting untuk transformasi tumor dan kelangsungan hidup sel ganas. Pengikatan ligan mengaktifkan reseptor kinase, menyebabkan autofosforilasi reseptor, dan fosforilasi tirozin pada banyak substrat, yang berfungsi sebagai sinyal protein adaptor termasuk, substrat reseptor insulin (String, 2023).</p>	
<h2>4. Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic (PI3KCA)</h2>	
<p>PIK3CA adalah gen yang paling sering bermutasi pada kanker payudara, dan terbukti penting dalam sejumlah jenis kanker. Sebagai bagian integral dari jalur PI3K, PIK3CA telah lama digambarkan sebagai onkogen, dengan dua hotspot utama untuk mengaktifkan mutasi, wilayah</p>	

Jalur patofisiologi dan protein target	Interaksi protein-protein target
<p>542/545 dari domain heliks, dan wilayah 1047 dari <i>domain kinase</i>. <i>PIK3CA</i>, dan interaksinya dengan jalur <i>AKT</i> dan <i>mTOR</i>, merupakan subjek dari banyak penelitian dan pengembangan, dan penghambatan <i>PI3K</i> hanya menunjukkan keberhasilan yang terbatas dalam uji klinis baru-baru ini. Meskipun potensi monoterapi tampaknya terbatas, terdapat minat baru-baru ini untuk melakukan penghambatan <i>PI3K</i> sebagai bagian dari resimen terapi kombinasi dengan mitra penghambat termasuk <i>TKI</i>, penghambat <i>MEK</i>, penghambat <i>PARP</i>, dan pada kanker payudara, penghambat aromatase (String, 2023).</p>	
<p><b>5. Phosphatase and tensin homolog (PTEN)</b></p> <p>Protein berperan penekan tumor dan bertindak sebagai protein fosfatase dengan spesifitas ganda, yang melakukan defosforilasi protein tirosin, serin, dan treonin terfosforilasi. Juga bertindak sebagai lipid fosfatase, menghilangkan fosfat pada posisi D3 cincin inositol dari fosfatidilinositol 3,4,5-trisfosfat, fosfatidilinositol 3,4-difosfat, fosfatidilinositol 3-fosfat dan inositol 1,3,4,5-tetrakisfosfat dengan urutan preferensi substrat <i>in vitro</i> <i>PtdIns(3,4,5)P3</i> &gt; <i>PtdIns(3,4)P2</i> &gt; <i>PtdIns3P</i> &gt; <i>Ins(1,3,4,5)P4</i>. Aktivitas lipid fosfatase sangat penting untuk tumornya (String, 2023).</p>	
<p><b>6. Cellular Tumor Antigen p53 (TP53)</b></p> <p>Gen ini mengkodekan protein penekan tumor yang mengandung aktivasi transkripsi, pengikatan DNA, dan domain oligomerisasi. Protein yang dikodekan merespons beragam tekanan seluler untuk mengatur ekspresi gen target, sehingga menginduksi penghentian siklus sel, apoptosis, penuaan, perbaikan DNA,</p>	



Jalur patofisiologi dan protein target	Interaksi protein-protein target
<p>sitoskeleton aktin, dan mendorong kelangsungan hidup sel dan perkembangan siklus sel (String, 2023).</p>	
<p><b>3. Ataxia Telangiectasia And Rad3-Related Protein (ATR)</b></p>	
<p>Protein yang dikodekan oleh gen ini adalah serin/treonin kinase dan sensor kerusakan DNA, mengaktifkan pos pemeriksaan siklus sel yang memberi sinyal pada tekanan DNA. Protein yang dikodekan dapat memfosforilasi dan mengaktifkan beberapa protein yang terlibat dalam penghambatan replikasi dan mitosis DNA, serta dapat mendorong perbaikan, rekombinasi, dan <i>apoptosis</i> DNA (String, 2023).</p>	
<p><b>4. Phosphatase And Tensin Homolog (PTEN)</b></p>	
<p>Protein ini secara negatif mengatur tingkat fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfat intraseluler dalam sel dan berfungsi sebagai penekan tumor dengan mengatur jalur sinyal AKT/PKB secara negatif. Penggunaan situs inisiasi hulu non-kanonik (CUG) menghasilkan isoform yang lebih panjang yang memulai translasi dengan leusin, dan dianggap lebih disukai terkait dengan membran dalam mitokondria. Isoform yang lebih panjang ini dapat membantu mengatur metabolisme energi di mitokondria (String, 2023).</p>	
<p><b>5. Erb-B2 Receptor Tyrosine Kinase 2 (ERBB2)</b></p>	
<p>Protein ini tidak mempunyai domain pengikat ligan sendiri sehingga tidak dapat mengikat faktor pertumbuhan. Namun, ia berikatan erat dengan anggota keluarga reseptor EGF yang terikat ligan lainnya untuk membentuk heterodimer, menstabilkan pengikatan ligan dan meningkatkan aktivasi jalur pensinyalan hilir yang dimediasi kinase, seperti yang melibatkan protein kinase teraktivasi</p>	

Jalur patofisiologi dan protein target	Interaksi protein-protein target
mitogen dan fosfatidilinositol-3 kinase (String, 2023).	
<b>6. Breast Cancer Type 1 Susceptibility Protein (BRCA1)</b>	
<p>Gen BRCA1 mengandung 22 ekson yang mencakup sekitar 110 kb DNA. Protein ini berperan sebagai penekan tumor lain, sensor kerusakan DNA, dan transduser sinyal untuk membentuk kompleks protein multi-subunit besar yang dikenal sebagai kompleks pengawasan genom terkait BRCA1 (BASC). Gen ini berasosiasi dengan RNA polimerase II, dan melalui domain terminal-C, juga berinteraksi dengan kompleks histon deasetilase. (String, 2023)</p>	

## G. Network Pharmacology

*Network pharmacology* adalah ilmu interdisipliner yang didasarkan pada farmakologi, biologi jaringan, biologi sistem, bioinformatika, ilmu komputasi, dan disiplin ilmu terkait lainnya. Secara khusus, ilmu ini adalah ilmu farmakologi berbasis jaringan (Iaees.org, 2024). *Network Pharmacology* memiliki potensi untuk memberikan pengobatan baru terhadap penyakit kompleks multigenik dan dapat mengarah pada pengembangan e-therapeutics di mana formulasi ligan dapat disesuaikan untuk setiap indikasi kompleks pada

setiap jenis penyakit (Chandran *et al.*, 2017). Menurut pendapat Kibble *et al.*, (2015) pendekatan *network pharmacology* akan memungkinkan pemetaan yang efektif dari ruang target produk alam yang belum dieksplorasi, sehingga menyediakan cara sistematis untuk memperluas ruang pada protein yang dapat diobati dan terlibat dalam berbagai penyakit kompleks.

Sebuah ilmu disiplin baru yang disebut *network pharmacology* (NP) telah muncul yang mencoba memahami kerja obat dan interaksi dengan berbagai target (Hopkins, 2007). Hal ini menggoda dunia penelitian untuk kembali dan mengeksplorasi secara ekstensif sumber-sumber alami, tempat farmakologi modern dimulai. *Network Pharmacology* muncul sebagai alat penting dalam memahami hubungan kompleks yang mendasari antara formula botani dan seluruh tubuh (Zhang *et al.*, 2013). Pendekatan berbasis *network pharmacology* telah ditegakkan dengan memperbarui paradigma penelitian dari "satu penyakit-satu target-satu obat" menjadi "jaringan obat-target-penyakit". Penentuan senyawa yang menargetkan protein terkait dengan penyakit tertentu sangat penting untuk memahami mekanisme molekuler dalam desain obat. Obat sintetis yang mengandung satu senyawa aktif dengan satu protein target suatu penyakit tidak dapat mengatasi penyakit kompleks yang menargetkan banyak protein sekaligus. Hal ini berbeda dengan ramuan bahan alam yang dalam sekaligus dapat melibatkan banyak komponen senyawa dan protein target. Fokus penelitian yang diperbarui ini menunjukkan perlunya menemukan kembali proses penemuan obat dengan mengintegrasikan pengetahuan tradisional dengan teknologi tercanggih (Patwardhan, 2014). Konsep jejaring farmakologi dibangun atas dasar penargetan beberapa node dalam sistem molekuler yang saling berhubungan, daripada molekul individu, dapat menghasilkan efek farmakologi yang lebih baik dan efek samping yang lebih sedikit (Hopkins, 2007).

Berdasarkan penelitian *network pharmacology* yang telah dilakukan (Mir, *et al.*, 2023) menyatakan bahwa *network pharmacology* digunakan untuk mengeksplorasi kandungan senyawa yang berpotensial dalam menekan kanker payudara pada *Delphinium roylei*. Hasil penelitian menunjukkan 464 gen target, 10 komponen aktif dan pada analisis pengayaan jalur KEGG 30 target menunjukkan bahwa 20 jalur pensinyalan teratas terlibat dalam kejadian dan perkembangan kanker payudara melalui *PI3K/Akt signaling pathway*.

## H. Perangkat Lunak dan *Web server*

### 1. KEGG *pathway*

*Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes Pathway (KEGG Pathway)* dalam *web server* berbasis pengetahuan untuk menganalisis sistematis fungsi gen, menghubungkan informasi genom dengan informasi fungsional tingkat tinggi. Informasi genom disimpan dalam database GENES, yang merupakan kumpulan katalog gen untuk semua genom yang diurutkan secara lengkap dan beberapa genom parsial dengan anotasi fungsi gen terkini. Informasi fungsional tingkat tinggi disimpan dalam *database PATHWAY*, yang berisi representasi grafis dari proses seluler, seperti metabolisme, transportasi membran, transduksi sinyal, dan siklus sel. Basis data *PATHWAY* dilengkapi dengan serangkaian tabel grup ortolog untuk informasi tentang sub-jalur yang dilindungi (*pathway motifs*), yang sering kali dikodekan oleh gen yang digabungkan secara posisional pada kromosom dan khususnya berguna dalam memprediksi fungsi gen. Basis data ketiga di KEGG adalah *LIGAND* untuk informasi tentang senyawa kimia, molekul enzim, dan reaksi enzimatik. KEGG menyediakan alat grafis *Java* untuk menelusuri peta genom, membandingkan dua peta genom dan memanipulasi peta ekspresi, serta alat komputasi untuk perbandingan urutan, perbandingan grafik, dan komputasi jalur. Basis data KEGG diperbarui setiap hari dan tersedia secara gratis (<http://www.genome.ad.jp/kegg/>) (Kanehisa & Goto, 2000).

### 2. PubChem

*PubChem* (<https://PubChem.ncbi.nlm.nih.gov/>) adalah gudang publik untuk informasi tentang zat kimia dan aktivitas biologisnya, diluncurkan pada tahun 2004 sebagai komponen Inisiatif *National Center for Biotechnology Information (NCBI)* dari *National Institute of Health AS (NIH)*. Selama 11 tahun terakhir, *PubChem* telah berkembang menjadi sistem yang cukup besar, berfungsi sebagai sumber informasi kimia bagi komunitas riset ilmiah. *PubChem* terdiri dari tiga database yang saling terkait, *Substance*, *Compound*, dan *BioAssay*. Basis data *Substance* berisi informasi kimia yang disimpan oleh kontributor data individu ke *PubChem*, dan basis data *Compound* menyimpan struktur kimia unik yang diekstraksi dari basis data *Substance*. Data aktivitas biologis zat kimia yang diuji dalam percobaan pengujian terdapat dalam database *BioAssay* (Kim *et al.*, 2015).

### 3. KNAPSAcK

*KNAPSAcK* digunakan dalam penelitian metabolomik, sehingga memungkinkan untuk mencari metabolit berdasarkan massa akurat, rumus molekul, nama metabolit, atau spektrum massa dalam beberapa mode ionisasi. Kami juga telah mengembangkan database untuk mengambil metabolit terkait tanaman yang digunakan untuk berbagai tujuan. Dalam database penggunaan tanaman multifaset kami, tanaman obat/tanaman yang dapat dimakan dikaitkan dengan zona geografis (GZs) dimana tanaman tersebut digunakan, aktivitas biologisnya, dan formula obat tradisional Jepang dan Indonesia (masing-masing Kampo dan Jamu). Data ini terhubung ke DB hubungan spesies-metabolit dalam DB Inti *KNAPSAcK*, yang dikunci melalui nama spesies. Seluruh database dapat diakses melalui website [http://kanaya.naist.jp/KNAPSAcK\\_Family/](http://kanaya.naist.jp/KNAPSAcK_Family/) (Afendi *et al.*, 2011).

### 4. Uniprot

UniProt adalah *web server* gratis yang menyediakan kepada pengguna rangkaian rangkaian protein yang komprehensif, berkualitas tinggi, dan dapat diakses secara bebas yang dilengkapi dengan informasi fungsional. Jumlah sekuen di UniProtKB telah meningkat menjadi sekitar 190 juta, meskipun upaya terus dilakukan untuk mengurangi redundansi sekuen pada tingkat proteom. Kami telah mengadopsi metode baru untuk menilai kelengkapan dan kualitas proteom. Kami terus mengekstrak anotasi terperinci dari literatur untuk ditambahkan ke entri yang ditinjau dan melengkapi entri yang belum ditinjau dengan anotasi yang disediakan oleh sistem otomatis seperti Annotator Berbasis Aturan Asosiasi (ARBA) yang baru diterapkan. Kami telah mengembangkan antarmuka pengiriman publikasi berbasis kredit untuk memungkinkan komunitas menyumbangkan publikasi dan anotasi pada entri UniProt. Kami menjelaskan bagaimana UniProtKB merespons pandemi COVID-19 melalui kurasi ahli atas entri relevan yang dengan cepat tersedia bagi komunitas riset melalui portal khusus. Sumber daya UniProt tersedia di bawah lisensi CC-BY (4.0) melalui web di <https://www.uniprot.org/> (The UniProt Consortium, 2023).

### 5. SwissTargetPrediction

*Web server SwissTargetPrediction* secara akurat memprediksi target molekul bioaktif berdasarkan kombinasi ukuran kemiripan 2D dan 3D dengan ligan yang diketahui. Prediksi dapat dilakukan pada lima organisme berbeda, dan pemetaan prediksi berdasarkan homologi

di dalam dan di antara spesies berbeda dimungkinkan untuk paralog dan ortolog dekat. SwissTargetPrediction dapat diakses secara gratis dan tanpa persyaratan login di <http://www.swisstargetprediction.ch> (Gfeller *et al.*, 2014).

## 6. Super-Pred

SuperPred dipublikasikan pada tahun 2014 hingga saat ini *web server* tersebut terus dikembangkan untuk menawarkan model canggih untuk klasifikasi obat menurut kelas ATC dan prediksi target. Untuk pertama kalinya, kumpulan data ATC yang difilter secara menyeluruh, yang sesuai untuk prediksi yang akurat, disediakan bersama dengan informasi terperinci tentang prediksi yang dicapai. Hal ini bertujuan untuk mengatasi tantangan dalam membandingkan berbagai metode prediksi yang dipublikasikan, karena performa dapat sangat bervariasi tergantung pada kumpulan data penelitian yang digunakan. Selain itu, ATC dan prediksi target telah dikerjakan ulang dan sekarang didasarkan pada model pembelajaran mesin, bukan kesamaan struktural secara keseluruhan, sehingga menekankan pentingnya gugus fungsi untuk mekanisme kerja zat molekul kecil. Kumpulan data untuk prediksi target telah disaring secara ekstensif dan tidak lagi hanya didasarkan pada bahan pengikat yang dikonfirmasi tetapi juga mencakup zat tidak mengikat untuk mengurangi positif palsu. Dengan menggunakan metode ini, akurasi prediksi ATC dapat ditingkatkan hampir 5% hingga 80,5% dibandingkan versi sebelumnya, dan selain itu fungsi penilaian kini menawarkan nilai yang mudah dinilai pada pandangan pertama. SuperPred 3.0 tersedia untuk umum tanpa perlu registrasi di: <https://prediction.charite.de/index.php> (Gallo *et al.*, 2022).

## 7. STRING

*STRING* bertujuan untuk mengumpulkan, menilai, dan mengintegrasikan semua sumber informasi interaksi protein-protein yang tersedia untuk umum, dan melengkapinya dengan prediksi komputasi. Tujuannya adalah untuk mencapai jaringan global yang komprehensif dan objektif, termasuk interaksi langsung (fisik) dan tidak langsung (fungsional). Versi terbaru *STRING version 12.0* menggandakan jumlah organisme yang dicakupnya lebih dari dua kali lipat, menjadi 5.090. Fitur baru yang paling penting adalah opsi untuk mengunggah seluruh kumpulan data genom sebagai masukan, memungkinkan pengguna memvisualisasikan subkumpulan sebagai jaringan interaksi dan untuk melakukan analisis pengayaan set gen pada

seluruh masukan. Untuk analisis pengayaan, *STRING* mengimplementasikan sistem klasifikasi terkenal seperti Gene Ontology dan KEGG, namun juga menawarkan sistem klasifikasi tambahan baru berdasarkan penambangan teks throughput tinggi serta pengelompokan hirarki jaringan asosiasi itu sendiri. Sumber daya *STRING* tersedia online di <https://string-db.org/> (Szklarczyk *et al.*, 2019)

## 8. STITCH

STITCH mengintegrasikan informasi tentang interaksi dari jalur metabolisme, struktur kristal, eksperimen pengikatan, dan hubungan obat-target. Informasi yang disimpulkan dari efek fenotipik, penambangan teks, dan kesamaan struktur kimia digunakan untuk memprediksi hubungan antar bahan kimia. STITCH selanjutnya memungkinkan eksplorasi jaringan hubungan kimia, juga dalam konteks protein pengikat terkait. Setiap interaksi yang diusulkan dapat ditelusuri kembali ke sumber data aslinya. Basis data kami berisi informasi interaksi untuk lebih dari 68.000 bahan kimia berbeda, termasuk 2.200 obat, dan menghubungkannya dengan 1,5 juta gen di 373 genom dan interaksinya terdapat dalam basis data STRING. STITCH tersedia di <http://stitch.embl.de/> (Kuhn *et al.*, 2008).

## 9. SEA

*Similarity Ensemble Approach* (SEA) digunakan untuk menghubungkan reaksi metabolismik dan kelas obat berdasarkan kesamaan kimianya, diukur dengan membandingkan pola topologi ikatan antar kumpulan molekul. Dua jenis kumpulan molekul digunakan dalam pekerjaan ini. Yang pertama terdiri dari molekul mirip obat yang diketahui bekerja pada target protein tertentu, dan yang kedua terdiri dari substrat dan produk reaksi enzimatis yang diketahui. Meskipun pendekatan ini melengkapi metode yang berfokus pada target dan penyakit. SEA tersedia di <https://sea.bkslab.org/>.

## 10. Venny 2.1.0.

Venny (<https://bioinfogp.cnb.csic.es/tools/venny/>) digunakan untuk menggambarkan kumpulan daftar gen yang unik, hasil dari venny dapat membantu untuk menemukan korelasi dalam protein. Analisis venny menunjukkan kecocokan antara protein source dan protein target. Analisis ini juga dapat menganalisis ketumpangtindihan protein target yang didapatkan dari STRING dan KEGG pathway (Lin *et al.*, 2016).

## 11. Cytoscape versi 3.10.2

*Cytoscape* adalah proyek perangkat lunak sumber terbuka untuk mengintegrasikan jaringan interaksi biomolekuler dengan data ekspresi throughput tinggi dan keadaan molekuler lainnya ke dalam kerangka konseptual terpadu. Meskipun dapat diterapkan pada sistem komponen dan interaksi molekul apa pun, *cytoscape* paling kuat bila digunakan bersama dengan database besar protein-protein, protein-DNA, dan interaksi genetik yang semakin tersedia untuk manusia dan organisme model. Perangkat lunak *cytoscape Core* menyediakan fungsionalitas dasar untuk tata letak dan kueri jaringan; untuk mengintegrasikan jaringan secara visual dengan profil ekspresi, fenotip, dan keadaan molekuler lainnya; dan untuk menghubungkan jaringan ke database anotasi fungsional. Core dapat diperluas melalui arsitektur plug-in yang sederhana, memungkinkan pengembangan cepat analisis dan fitur komputasi tambahan. Beberapa studi kasus plug-in *cytoscape* disurvei, termasuk pencarian jalur interaksi yang berkorelasi dengan perubahan ekspresi gen, studi tentang kompleks protein yang terlibat dalam pemulihan sel terhadap kerusakan DNA, inferensi jaringan interaksi fisik/fungsional gabungan untuk *Halobacterium*, dan antarmuka ke model regulasi gen stokastik/kinetik yang terperinci (Shannon *et al.*, 2003).

### I. Landasan Teori

Kanker payudara (*Carcinoma mammae*) adalah benjolan abnormal (tumor) ganas yang tumbuh dalam jaringan payudara. Tumor tersebut dapat menyebar ke bagian lain di seluruh tubuh. Penyebaran tersebut disebut dengan metastase (Iqmy *et al.*, 2021). Kanker payudara merupakan penyakit yang heterogen; fitur molekuler seperti aktivasi *human epidermal growth factor receptor 2* (HER2, dikodekan oleh ERBB2), aktivasi reseptor hormon (reseptor estrogen dan reseptor progesteron), dan/atau mutasi BRCA akan menyebabkan perkembangan kanker. Penatalaksanaan kanker lokal-regional melalui pembedahan dan terapi radiasi atau terapi sistemik menggunakan hormon, zat penstabil tulang, inhibitor poli (ADP-ribosa) polimerase, dan imuno-terapi saat ini digunakan untuk mengobati pasien kanker payudara dan meningkatkan kualitas hidup mereka (Harbeck *et al.*, 2019). Dari reseptor-reseptor tersebut, protein dan gen terlibat dalam mekanisme kerjanya. Sehingga protein dan gen target yang didapatkan melalui *KEGG Pathway* yang diprediksi menjadi target kerja

patofisiologi kanker payudara meliputi enam jalur yaitu *estrogen signaling pathway*, *MAPK signaling pathway*, *PI3K-Akt signaling pathway*, *p53 signaling pathway*, *Notch signaling pathway*, dan *Wnt signaling pathway*. Namun berdasarkan Mutiah *et al.* (2023) dari keenam jalur tersebut yang lebih memiliki hubungan yang erat dengan patofisiologi kanker payudara, yaitu *estrogen signaling pathway*, *MAPK signaling pathway*, *PI3K-Akt signaling pathway*, dan *p53 signaling pathway*.

Tata laksana secara umum diterapi seperti tumor primer yang baru dengan tujuan kuratif dan tata laksana secara spesifik berdasarkan subtipe dari kanker payudara yang meliputi terapi hormonal, anti-HER2, kemoterapi, terapi target yang baru seperti lapatinib, antiangiogenesis seperti bevacizumab dan sunitinib. Terapi endokrin menjadi pilihan, kecuali bila secara klinis penyakit agresif yang memerlukan respons terapi yang lebih cepat atau jika terdapat keraguan akan respon tumor terhadap endokrin. Pilihan terapi endokrinnya adalah golongan *selective estrogen receptor modulators* (SERMs) seperti tamoksifen, toremifen (Kurniawan & Prayogo, 2012). Terapi endokrin hanya efektif pada penyakit reseptor hormon positif, sedangkan kemoterapi efektif pada penyakit reseptor hormon negatif dan positif. Hanya pasien dengan kanker HER2 positif yang akan ditawari pengobatan dengan trastuzumab (National Collaborating Centre for Cancer, 2009).

Ekstrak tanaman inggu (*Ruta graveolens*) diketahui dapat menghambat proliferasi dari sel kanker. Peran antikanker tersebut ditunjukkan oleh kandungan flavonoid rutin (quercetin-3- $\beta$ -rutinoside) yang tinggi pada dosis 86,0 mg/g (Bimayana, 2018). Sedangkan pada ekstrak daun *A. Occidentale* diidentifikasi kandungan kimianya dengan analisis *gas chromatography-mass spectrometry* (GC-MS) menghasilkan 31 senyawa termasuk dalam alkana, hidrokarbon, yodium, terpenoid, fenolik, dan flavonoid (Pham *et al.*, 2023).

### **J. Keterangan Empiris**

Berdasarkan uraian di atas, maka dapat dibuat kerangka empiris pada penelitian ini meliputi:

Pertama, protein target yang menjadi target kerja pada daun inggu (*Ruta graveolens* L) dan daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L), salah satunya pada jalur pensinyalan MAPK.

Kedua, profil *network pharmacology* yang terbentuk diperoleh dari senyawa kimia pada daun inggu (*Ruta graveolens* L.) dan daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) yang memiliki interaksi terhadap protein target utama dan protein gen lainnya pada kanker payudara.