

DAFTAR ISI

	Hal.
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
ABSTRAK	xv
ABSTRACT	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian	6
1.4 Manfaat Penelitian	7
1.5 Keaslian Penelitian	8
1.6 Kebaruan Penelitian	10
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	13
2.1 Mekanisme Molekuler Karsinogenesis	13
2.1.1 Kelainan dalam Apoptosis	15
2.1.2 Gangguan dalam Pengaturan Siklus Sel	17
2.1.3 Peningkatan Angiogenesis	18
2.1.4 Aktivitas Telomerase Berlebihan	21
2.1.5 Inflamasi yang Memicu Tumor	22
2.2 Target Terapi Antikanker	24
2.2.1 Penghambatan Siklus Sel dan Induksi Apoptosis	24
2.2.2 Penghambatan terhadap COX-2	24
2.2.3 Penghambatan Angiogenesis melalui Hambatan VEGF	25

2.2.4	Penghambatan Telomerase	26
2.3	Potensi Xanton sebagai Senyawa Antikanker	27
2.3.1	Senyawa Turunan Xanton	27
2.3.2	Aktivitas Antikanker Senyawa Xanton	28
2.4	Metode Pengujian Sitotoksisitas dan Pengukuran Ekspresi Gen	30
2.4.1	Uji Aktivitas Sitotoksik	30
2.4.2	Pengukuran Tingkat Ekspresi Gen	30
2.5	Pemanfaatan Kimia Komputasi dalam Desain dan Pengembangan Obat	32
2.5.1	<i>Quantitative Structure Activity Relationship (QSAR)</i>	32
2.5.2	<i>Molecular Docking</i>	34
2.6	Sel Lini Kanker	35
2.6.1	Sel Raji	35
2.6.2	Sel WiDR	35
2.7	Doxorubicin	36
2.8	Landasan Teori	37
2.9	Kerangka Teori	39
2.10	Kerangka Konsep Penelitian	40
2.11	Hipotesis	41
BAB III	METODE PENELITIAN	42
3.1	Jenis dan Rancangan Penelitian	42
3.2	Lokasi Penelitian	42
3.3	Alat Penelitian	42
3.4	Bahan Penelitian	43
3.5	Tahap Penelitian	43
3.6	Variabel Penelitian	44
3.7	Definisi Operasional	44
3.8	Jalannya Penelitian	45
3.8.1	Penyiapan Alat, Bahan, dan Media Kultur	45
3.8.2	Uji Sitotoksisitas	47
3.8.2.1	Menghitung Jumlah Sel	47

3.8.2.2	Pengukuran Aktivitas Sitotoksik dan Indeks Selektivitas	47
3.8.3	Analisis QSAR	49
3.8.4	Desain Senyawa Turunan Xanton dengan Aktivitas Sitotoksik Lebih Baik	51
3.8.5	Pengukuran Aktivitas Sitotoksik Secara Kombinasi	51
3.8.6	<i>Molecular Docking</i> Senyawa Turunan Xanton	52
3.8.6.1	Penyiapan Reseptor Target dan Ligan	52
3.8.6.2	Proses <i>Molecular Docking</i>	53
3.8.6.3	Visualisasi Hasil <i>Docking</i>	53
3.8.7	Pemeriksaan Ekspresi mRNA COX-2, VEGF, dan Telomerase dengan Teknik <i>quantitative real time Polymerase Chain Reaction</i> (qRT PCR)	54
3.8.7.1	Isolasi RNA Total dari Kultur Sel	54
3.8.7.2	Sintesis <i>complementary DNA</i> (cDNA)	56
3.8.7.3	Pengukuran Ekspresi mRNA	56
3.9	Analisis Data	58
3.9.1	Uji Sitotoksik dan Indeks Selektivitas	58
3.9.2	Analisis QSAR	58
3.9.3	Ekspresi mRNA	58
3.9.4	Uji Kombinasi Senyawa Turunan Xanton dengan Doxorubicin	59
3.10	Implikasi Etik Penelitian	58
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	60
4.1	Pengujian Sitotoksitas	61
4.1.1	Hasil Uji Sitotoksik Sel WiDR	63
4.1.2	Hasil Uji Sitotoksik Sel Raji	68
4.2	Analisis QSAR Senyawa Xanton terhadap Sel Lini Kanker	70
4.2.1	Analisis QSAR terhadap Sel WiDR	72
4.2.2	Analisis QSAR terhadap Sel Raji	75

4.3	Desain Senyawa Xanton dengan Aktivitas Sitotoksik Prediksi Lebih Baik	78
4.3.1	Desain Senyawa Xanton Usulan untuk Sel WiDR..	80
4.3.2	Desain Senyawa Xanton Usulan untuk Sel Raji	83
4.4	Analisis Uji Kombinasi Senyawa 6 (TTX)–Doxorubicin terhadap Sel Raji	88
4.5	Pengujian Ekspresi mRNA COX-2, VEGF, dan Telomerase	100
4.5.1	Penyiapan mRNA	100
4.5.2	Pengujian Ekspresi mRNA	105
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	119
5.1	Kesimpulan	119
5.2	Saran	120
	DAFTAR PUSTAKA	121
	RINGKASAN	140
	SUMMARY	156
	LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

	Hal.
Tabel 2.1 Perbandingan nilai IC ₅₀ doxorubicin terhadap berbagai sel lini kanker	36
Tabel 3.1 Interpretasi nilai IK berdasarkan program Compusyn	52
Tabel 3.2 Urutan basa dan kondisi mesin qRT-PCR yang digunakan ...	57
Tabel 4.1 Hasil uji sitotoksik senyawa xanton terhadap sel WiDR	64
Tabel 4.2 Hasil uji sitotoksik senyawa xanton terhadap sel Raji	69
Tabel 4.3 Model persamaan QSAR pada sel WiDR	72
Tabel 4.4 Ranking urutan model gabungan pada sel WiDR	72
Tabel 4.5 Nilai log 1/IC ₅₀ eksperimen vs. prediksi senyawa xanton pada sel WiDR	74
Tabel 4.6 Model persamaan QSAR pada sel Raji	76
Tabel 4.7 Ranking urutan model gabungan pada sel Raji	76
Tabel 4.8 Nilai log 1/IC ₅₀ eksperimen vs. prediksi senyawa xanton pada sel Raji	77
Tabel 4.9 Gugus fungsional yang bersifat <i>electron-donating</i> dan <i>electron-withdrawing</i>	79
Tabel 4.10 Senyawa xanton usulan berdasarkan analisis QSAR terhadap sel WiDR	81
Tabel 4.11 Senyawa xanton usulan berdasarkan persamaan terpilih pada sel Raji dengan modifikasi pada posisi atom C1 dan C6	84
Tabel 4.12 Modifikasi senyawa usulan 16_R dengan substitusi pada posisi atom C2, C3, C4, C5, C7, dan C8	86
Tabel 4.13 Nilai indeks kombinasi (IK) antara TTX dan doxorubicin yang dihitung dengan program CompuSyn	90
Tabel 4.14 Hasil <i>molecular docking</i> TTX terhadap berbagai reseptor dalam patogenesis resistensi doxorubicin	94

Tabel 4.15	Posisi ikatan hidrogen antara ligan senyawa 6 (TTX) dengan reseptor Raf-1 (PDB ID: 3OMV)	97
Tabel 4.16	Posisi ikatan hidrogen antara ligan senyawa 6 (TTX) dengan reseptor JNK (PDB ID: 3PZE)	98
Tabel 4.17	Konsentrasi dan kemurnian RNA hasil isolasi	102
Tabel 4.18	Kemurnian cDNA hasil amplifikasi	103
Tabel 4.19	Perbandingan pengukuran tingkat ekspresi beta aktin dan GAPDH	105
Tabel 4.20	Tingkat ekspresi gen untuk sel WiDR	107
Tabel 4.21	Struktur reseptor protein yang digunakan untuk simulasi <i>docking</i> (uji <i>in silico</i>)	108
Tabel 4.22	Hasil <i>molecular docking</i> senyawa 5 terhadap reseptor yang terlibat dalam patogenesis kanker	108
Tabel 4.23	Posisi ikatan hidrogen antara ligan senyawa 5 (3,4,6-trihidroksixanton) dengan reseptor COX-2 (PDB ID: 1CX2)	110
Tabel 4.24	Posisi ikatan hidrogen antara ligan senyawa 5 (3,4,6-trihidroksixanton) dengan reseptor Cdk2 (PDB ID: 2UZO)	111
Tabel 4.25	Hasil <i>molecular docking</i> senyawa 6/TTX terhadap reseptor yang terlibat dalam patogenesis kanker	116

DAFTAR GAMBAR

	Hal.
Gambar 1.1	Senyawa turunan xanton yang diuji 5
Gambar 2.1	Karakteristik sel kanker (<i>The hallmarks of cancer</i>) 14
Gambar 2.2	Jalur yang terlibat dalam apoptosis 16
Gambar 2.3	Proses siklus sel dan protein yang terlibat 17
Gambar 2.4	Peran telomerase dalam regulasi <i>the hallmarks of cancer</i> 22
Gambar 2.5	Struktur senyawa xanton 27
Gambar 2.6	Peran QSAR dalam optimisasi senyawa obat 33
Gambar 2.7	Kerangka teori 39
Gambar 2.8	Kerangka konsep penelitian 40
Gambar 3.1	Bagan alir uji sitotoksik 48
Gambar 3.2	Bagan alir analisis QSAR senyawa xanton 50
Gambar 3.3	Bagan alir pengukuran ekspresi mRNA 58
Gambar 4.1	Sel WiDR pasca MTT 62
Gambar 4.2	Sel Vero pasca MTT 62
Gambar 4.3	Sel Raji pasca MTT 63
Gambar 4.4	Morfologi sel WiDR pasca perlakuan 63
Gambar 4.5	Plot efek sitotoksik eksperimen vs prediksi model terpilih pada sel WiDR 75
Gambar 4.6	Plot efek sitotoksik eksperimen vs prediksi model terpilih pada sel Raji 78
Gambar 4.7	Efek penghambatan pertumbuhan sel Raji oleh TTX pada penggunaan tunggal 88
Gambar 4.8	Efek penghambatan pertumbuhan sel Raji oleh doxorubicin pada penggunaan tunggal 89
Gambar 4.9	Efek penghambatan pertumbuhan sel Raji oleh TTX dan doxorubicin pada penggunaan kombinasi 90

Gambar 4.10	<i>Normalized</i> isobologram uji kombinasi TTX-doxorubicin pada sel Raji	91
Gambar 4.11	Ikatan hidrogen yang terbentuk antara residu asam amino reseptor Raf-1 (PDB ID: 3OMV) dengan ligan	97
Gambar 4.12	Ikatan hidrogen yang terbentuk antara residu asam amino reseptor JNK (PDB ID: 3PZE) dengan ligan	98
Gambar 4.13	Ikatan hidrogen yang terbentuk antara residu asam amino reseptor COX-2 (PDB ID: 1CX2) dengan ligan	109
Gambar 4.14	Ikatan hidrogen yang terbentuk antara residu asam amino reseptor Cdk-2 (PDB ID: 2UZO) dengan ligan	111
Gambar 4.15	Keterkaitan antara inhibitor COX-2 dengan siklus sel	114
Gambar 4.16	Skema usulan mekanisme aksi sitotoksitas senyawa xanton	117

DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1** Tabel Distribusi F
- Lampiran 2** Surat Kelayakan Etik
- Lampiran 3** Elektronegativitas Atom
- Lampiran 4** Hasil Penghitungan Program CompuSyn untuk Kombinasi TTX-Doxorubicin
- Lampiran 5** Hasil Uji Statistik IC₅₀ TTX Tunggal, Doxorubicin Tunggal, dan Kombinasi TTX-doxorubicin
- Lampiran 6** Perbandingan Beta Aktin dan GAPDH sebagai *Reference Genes*
- Lampiran 7** Hasil Uji Statistik Tingkat Ekspresi mRNA COX-2, VEGF, dan Telomerase
- Lampiran 8** Daftar Riwayat Hidup
- Lampiran 9** Daftar Publikasi dan Konferensi Ilmiah terkait Disertasi