



Review Artikel: Model Biorekognisi Berbasis Antibodi (*Immunodiagnostic*) Pada Biosensor Untuk Deteksi Awal Kanker Payudara

Article of Review: Biorecognition Model Based on Antibody Biosensor (*Immunodiagnostic*) For Early Detection of Breast Cancer

Syifa Luthfiah¹ dan Nelis Hernahadini^{1*}

¹ Departemen Bioteknologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Muhammadiyah Bandung

*Corresponding author: Jalan Soekarno-Hatta No. 752 Kota Bandung, Provinsi Jawa Barat, 40614, Indonesia.

E-mail addresses: nelis.hernahadini@umbandung.ac.id

2024 BIODIVERSE: Jurnal Biodiversitas dan Bioteknologi

Abstract

Breast cancer is one of the highest causes of death in women worldwide. This is because breast cancer patients only get health services when the cancer is advanced. Early diagnosis of cancer is essential for successful treatment of the disease because cancer will be much easier to cure in the early stages. Innovative biosensor strategies will allow cancer testing to be performed faster, cheaper, and more reliably. An immunosensor is a type of solid-state affinity-based biosensor in which a specific target analyte, an antigen (Ag), is detected by the formation of a stable immunocomplex between the antigen and the antibody as a scavenging agent (Ab) that generates a measurable signal for the transducer. This study uses the analysis of several articles that have been published in accredited international journals with schematics and advances in antibody-based biorecognition as the main focus of the research. Among these publications, monoclonal antibody biorecognition models are integrated with nanoparticles with HER2 biomarkers through detection in blood using electrochemical, optical, and piezoelectric principles. This finding shows that the biosensor developed shows good clinical results so that it is feasible to be applied massively for early detection of breast cancer which is expected to improve patient survival.

Article info

Article history:

Received: 06 February 2024

Revised : 10 June 2024

Accepted: 20 June 2024

Available online: 30 June 2024

Keywords:

antibody

biosensor

breast cancer

immunodiagnostic

1. PENDAHULUAN

Kanker payudara merupakan salah satu penyakit yang menyebabkan kematian tinggi pada wanita [1]. Menurut WHO pada tahun 2020 angka kasus baru kanker payudara secara global jumlahnya lebih dari 2,2 juta kasus, dengan jumlah kematian yang cukup tinggi, yakni 684.996

kematian. Pencegahan, diagnosis dini, dan pengendalian tepat waktu terhadap kanker payudara tengah menjadi perhatian untuk mengurangi angka kematian. Pengembangan alat dan teknik diagnostik untuk pendeteksian kanker payudara terus dilakukan walau masih jauh dari ideal [2].

Saat ini metode untuk skrining dan deteksi dini didasarkan pada alat imagiologi, yaitu mamografi. Deteksi dengan mamografi memberikan efisiensi yang cukup tinggi, tetapi alat ini hanya memungkinkan visualisasi tumor dan tidak dapat memprediksi perilaku biologis serta evolusinya [3]. Deteksi sekuens gen kanker yang telah bermutasi dapat dilakukan dengan metode sekuensing menggunakan sampel darah dan melalui teknik- teknik seperti biopsi cair, *circulating tumor DNA* (ctDNA) , dan *cell-free DNA* (cfDNA) [4]. Namun, mengingat konsentrasi ctDNA yang rendah maka tentu perlu dilakukan amplifikasi, hal ini akan mempersulit dan memperpanjang metode deteksi.

Biosensor memiliki potensi untuk menjadi alternatif dalam diagnosis dan manajemen kanker karena kemampuannya untuk mendeteksi analit biologis (protein, DNA, RNA, dll.) dan mengubahnya menjadi sinyal listrik yang dapat direkam [5] dengan hasil analisis yang cepat dan pengenalan yang spesifik [6]. Pengembangan biosensor ke arah immunosensor dilakukan untuk melengkapi kekurangan metode diagnosa berbasis DNA.

Elemen biorekognisi yang terdapat secara alami seperti antibodi, optimal untuk aplikasi instrument biosensor berkat selektivitasnya, dimana selektivitas ini merupakan karakteristik yang paling penting dalam analisis menggunakan biosensor. Antibodi mengikat antigen spesifik melalui domain Fab yang dibentuk oleh daerah hipervariabel dari rantai berat dan ringan [7]. Jenis biosensor yang mendeteksi peristiwa pembentukan kompleks antigen antibodi dan mengkonversinya melalui transduser menjadi sinyal listrik dikenal dengan immunosensor. Tinjauan literatur ini bertujuan dalam menyampaikan informasi yang mencakup skema antibodi marker kanker payudara sebagai biorekognisi dan performa deteksi pemnggunakan berbagai jenis transduser (elektrokimia, optis dan piezoelektrik)

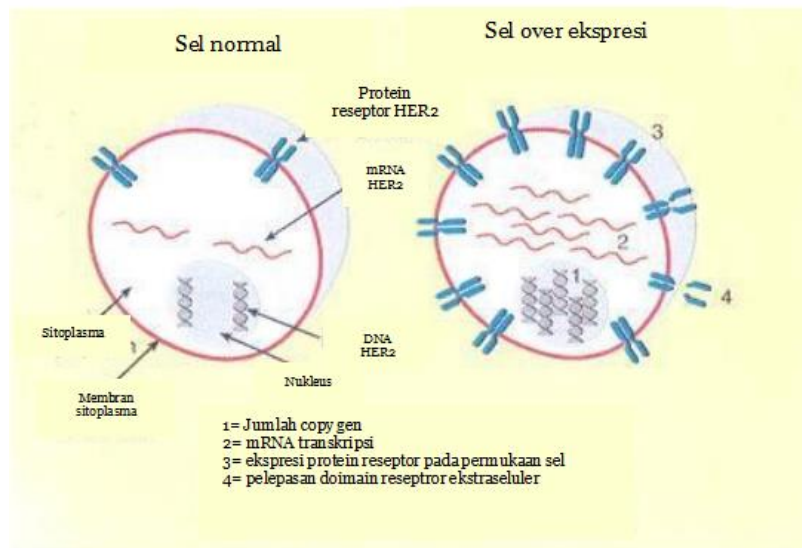
2. METODE

Studi literatur dilakukan dengan telusur pustaka dari berbagai situs jurnal diantaranya Pubmed, Google scholar dan Research gate kemudian dirangkum berdasarkan kesesuaian topik dan tujuan penulisan artikel *review*.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Diagnosa non-invasif melalui deteksi biomarker kanker merupakan fokus penelitian yang terus meningkat. Biomarker merupakan molekul seperti asam nukleat dan protein, yang dapat dideteksi pada sampel yang diperoleh melalui metode mudah dan non-invasif, seperti menggunakan sampel darah (serum atau plasma), air liur, usapan bukal, tinja, urin, dan lainnya ntuk menjadi indikator adanya sel sel kanker [8].

Dalam analisis serum, biomarker yang melepaskan domain ekstraseluler seperti protein adalah analit penting yang dapat digunakan sebagai sumber informasi tentang status tumor diantaranya adalah protein HER2. HER2 adalah anggota dari *epidermal growth factor receptor* (EGFR) yang diekspresikan pada sel normal dalam kadar yang sesuai dengan kebutuhan [9]. HER2 memediasi sinyal seluler di banyak jaringan termasuk payudara, ovarium, paru-paru, hati, ginjal, dan saraf [10]. Overekspresi dan regulasi tidak terkendali dari protein HER2 yang mencapai 20-30 % telah diakui sebagai biomarker untuk tumor payudara. Skema *over* ekspresi HER2 disajikan pada Gambar 1.

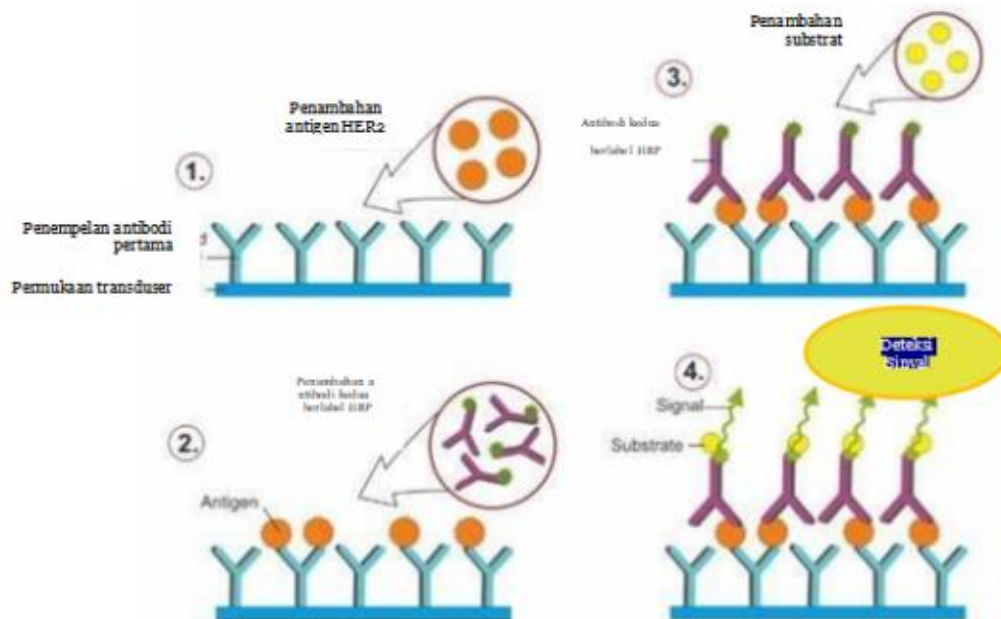


Gambar 1. Over ekspresi antibodi HER2 [11]

Ekspresi protein HER2 pertama kali terungkap pada kanker payudara yang berkaitan dengan pengamatan bahwa status HER2 sensitif atau resisten terhadap beberapa agen endokrin dan obat kemoterapi [12]. Antibodi monoklonal menargetkan domain ekstraseluler dari protein HER2, dan merupakan andalan imunoterapi pasif pada kanker payudara positif HER2. Antibodi monoklonal yang berikatan dengan domain ekstraseluler HER2 menghambat aktivitas pensinyalan dan menginduksi sitotoksitas yang dimediasi oleh sel. Antibodi diklasifikasikan sebagai elemen biorekognisi berbasis afinitas dimana sinyal analisisnya tergantung pada peristiwa pengikatan imunokompleks antibodi-antigen [13].

3.1. Sensor Elektrokimia Berbasis Antibodi

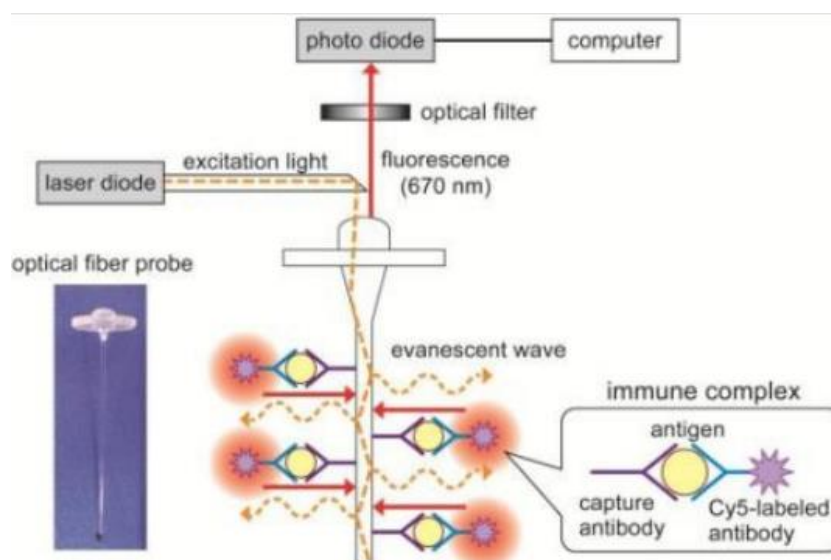
Pada immunosensor elektrokimia, peristiwa pembentukan kompleks antigen-antibodi diubah menjadi sinyal listrik. Sebagian besar antibodi dan antigen tidak bersifat elektroaktif dan tidak dapat memberikan respon amperometrik oleh karena itu pada metode ini menggunakan label elektroaktif atau mediator untuk mendeteksi biomarker dengan pengembangan immunosensor amperometrik diantaranya adalah *enzim imunosorben horse radish peroxidase* (HRP). Label HRP ini berbasis antibodi tidak langsung (*sandwich*) yang merupakan penggunaan dua jenis antibodi (primer dan sekunder) pada nanopartikel AuNP yang telah dilabeli antibodi sekunder anti HER-1 dan anti HER-2 sekunder dan interaksi dengan antibodi primer anti HER-1 dan HER-2 yang melekat pada permukaan elektroda emas. Proses pembentukan kompleks antibodi dengan antibodi sekunder berlabel enzim HRP terdeteksi setelah penambahan substrat enzim dan mediator redoks yang tepat (kofaktor). *Tetramethyl benzidine dihydrochloride hydrate* (TMB) adalah substrat dan pendonor elektron. Aktivitas enzimatik HRP mengubah mediator redoks tereduksi (TMB) menjadi mediator teroksidasi pada permukaan elektroda. Aktivitas reduksi inilah yang menjadi indikator interaksi antara antigen HER2 dengan antibodi HER2 pada deteksi keberadaan sel kanker payudara. Immunosensor elektrokimia HER2 AuNP menunjukkan spesifisitas tinggi dan reaktivitas silang yang rendah terhadap HER2[14]. Skema deteksi immunosensor elektrokimia disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Prinsip kerja Immunosensor elektrokimia [15]
 Sumber : Western Blot - The Definitive Guide | Biology Dictionary

3.2. Sensor Optik Berbasis Antibodi

Dalam biosensor optik, elemen sensitif biologis diimobilisasi ke permukaan transduser, kemudian interaksi antibodi dengan analit target menghasilkan sinyal optik, seperti fluoresensi, atau mengalami perubahan sifat optik, seperti penyerapan, pemantulan, emisi, indeks bias, dan jalur optik. Pada Gambar 3. Ketika terjadi kompleks antigen antibodi maka akan dihasilkan sinyal berupa fluoresensi, sinyal optik tersebut dikumpulkan oleh fotodetektor dan diubah menjadi sinyal listrik yang selanjutnya diproses secara elektronik menghasilkan data pembacaan [16].



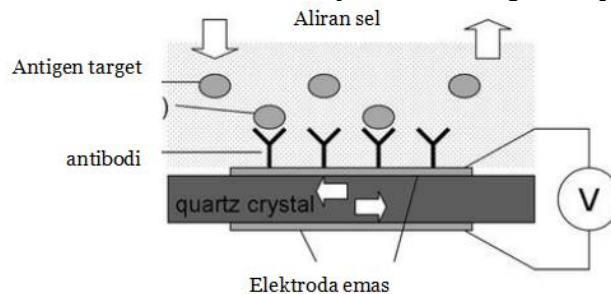
Gambar 3. Prinsip kerja Immunosensor optik [17]

Nanomaterial dapat digunakan sebagai indikator sinyal yang sangat baik jika dipasangkan bersama antibodi atau antigen untuk membentuk *probe* sinyal sebagai inovasi dalam konstruksi immunosensor. Sistem optik menggabungkan pembacaan bebas-label untuk melacak pengembangan waktu-nyata *bioassay* dan kuantifikasi emisi Fluoresensi ke evaluasi tingkat

interaksi spesifik antara antigen dan antibodi [16]. Pileri *et al* [18] melaporkan perbandingan afinitas sensor optik tiga spesies imunoglobulin yang berbeda. Ketiga antibodi diimobilisasi ke permukaan *biochip* yaitu 2 jenis antibodi monoklonal spesifik untuk HER2 antara lain W6/300G9 (ROI 1) dan Herceptin (ROI 2), dan satu lagi merupakan antibodi nonspesifik *Human Leukocyte antigens* (HLA) yang bertindak sebagai kontrol. Ketiga antibodi diimobilisasi dengan kepadatan molekul *probe* sampai 1173 ± 77 pg / mm².

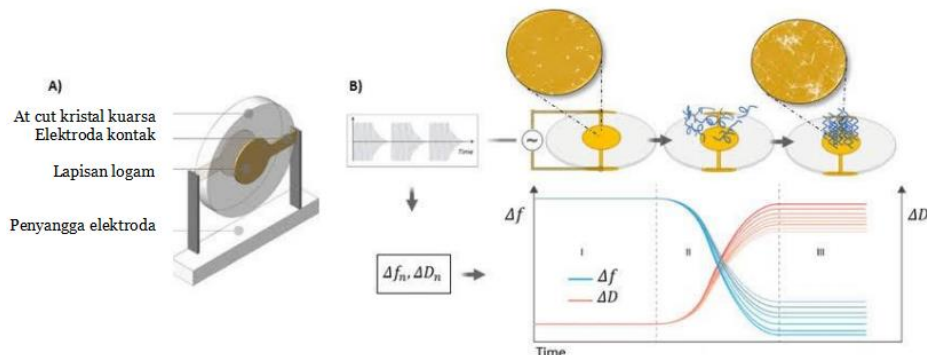
3.3. Sensor Piezoelektrik Berbasis Antibodi

Sensor piezoelektrik mendeteksi berdasarkan perubahan massa. Perubahan massa yang terjadi setelah pembentukan antigen-antibodi dapat diukur dengan menggunakan transduser piezoelektrik, seperti *quartz crystal microbalance* dan mikrokantilever, yang bergetar pada frekuensi sensitif tertentu. Antigen atau antibodi dapat diimobilisasi ke permukaan perangkat piezoelektrik dan pembentukan kompleks antigen-antibodi yang dideteksi sebagai pergeseran frekuensi getaran dengan sensitivitas tinggi [16]. Pada piezoelektrik terdapat dielektrik yang diapit diantara 2 bidang elektroda. Dielektrik berperan sebagai pembangkit dipol listrik. Saat elektroda piezoelektrik mengalami tekanan maka energi mekanik tersebut diubah menjadi tegangan listrik yang besarnya sesuai ketukan atau tekanan yang diberikan, hal ini karena terjadinya perubahan dimensi bahan yang ada pada komponen tersebut, sebaliknya ketika bidang piezo dialiri arus listrik maka energi listrik tersebut akan diubah menjadi tekanan/ getaran[19].



Gambar 6. Prinsip kerja Immunosensor piezoelektrik [18]

Yilmaz *et al* [10] mengembangkan transduser berbasis *quartz crystal microbalance* (QCM) yang spesifik dan sederhana untuk mengidentifikasi sel kanker payudara yang mengekspresikan HER2/neu melalui antibodi monoklonal spesifik reseptor. Pertama, qcm digabungkan dengan *chip* emas seperti terlihat pada gambar 7. kemudian dilapisi dengan nanopartikel polimer yang terdiri dari hidroksietilmetakrilat (HEMA) dan etilena glikol dimetakrilat (EDMA) untuk mengikat antibodi HER2/neu. Sel-sel kanker payudara dengan/tanpa ekspresi reseptor HER2/neu, yaitu SKBR3, MDA-MB 231 dan juga fibroblas tikus melewati chip dengan kecepatan 10-500 sel/mL. Ketika terjadi kompleks antigen Her2 dengan antibodi maka membuat massa berubah (Δm) pada sel/cm di permukaan unit sensor dan terdeteksi secara *real-time*. Batas deteksi sistem adalah 10 sel/mL. Dengan demikian, sistem fungsional antibodi reseptor HER2/neu berbasis QCM ini dapat digunakan secara efektif dalam mendeteksi sel kanker payudara SKBR3 yang mengekspresikan HER2/neu.



Gambar 7. Desain immunosensor berbasis *Quartz crystal microbalance* [20].

4. KESIMPULAN

Berdasarkan ringkasan pengembangan metode dan instrumen deteksi biomarker kanker payudara dengan menggunakan biosensor berbasis biorekognisi antibodi. Deteksi kanker payudara bisa dilakukan berdasarkan interaksi antara protein HER2 pada sel kanker dengan antibodi HER 2 yang dikombinasikan pada model transduser elektrokimia, piezoelektrik dan optik, hal ini menjadikan metode deteksi ini memiliki peluang besar menjadi metode pengujian kanker yang tercepat, serta andal.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Program Studi Bioteknologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Muhammadiyah Bandung.

6. DAFTAR REFERENSI

- [1]Kemenkes RI. 2022. Data Kanker Indonesia. <https://www.kemkes.go.id/id/rilis-kesehatan/kanker-payudaya-paling-banyak-di-indonesia-kemenkes-targetkan-pemerataan-layanan-kesehatan>.
- [2]Sadighbayan, D., Sadighbayan, K., Khosroushahi, A. Y., & Hasanzadeh, M. 2019. Recent advances on the DNA-based electrochemical biosensing of cancer biomarkers: Analytical approach. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 119, 115609.
- [3]Berghuis, A. S., Koffijberg, H., Prakash, J., Terstappen, L. W., & IJzerman, M. J. 2017. Detecting blood-based biomarkers in metastatic breast cancer: a systematic review of their current status and clinical utility. *International journal of molecular sciences*, 18(2), 363.
- [4]Qiu, J., Keyser, B., Lin, Z. T., & Wu, T. 2018. Autoantibodies as potential biomarkers in breast cancer. *Biosensors*, 8(3), 67.
- [5]Ertürk, G.; Özen, H.; Tümer, M.A.; Mattiasson, B.; Denizli, A. 2016. Microcontact imprinting based surface plasmon resonance (SPR) biosensor for real-time and ultrasensitive detection of prostate specific antigen (PSA) from clinical samples. *Sens. Actuators B Chem.* 224, 823-832.
- [6]Freitas, M., Nouws, H. P., & Delerue-Matos, C. 2018. Electrochemical Biosensing in Cancer Diagnostics and Follow-up. *Electroanalysis*, 30(8), 1584-1603.
- [7]Wang, Q., Chen, Y., Park, J., Liu, X., Hu, Y., Wang, T., & Betenbaugh, M. J. (2019). Design and production of bispecific antibodies. *Antibodies*, 8(3), 43.
- [8]Sarhadi, V. K., & Armengol, G. 2022. Molecular biomarkers in cancer. *Biomolecules*, 12(8), 1021.
- [9]Browne, B.C.; O'Brien, N.; Duffy, M.J.; Crown, J.; O'Donovan, N. HER-2 signaling and inhibition in breast cancer. *Curr. Cancer Drug Targets* 2009, 9, 419-438.
- [10]Yılmaz, M., Bakhshpour, M., Göktürk, I., Pişkin, A. K., & Denizli, A. 2021. Quartz crystal microbalance (QCM) based biosensor functionalized by HER2/Neu antibody for breast cancer cell detection. *Chemosensors*, 9(4), 80.
- [11]Mary B. Ahnelhopp. 2000. HER2 in Breast Cancer--What Does it Mean?. Genentech.medscape.org.
- [12]Mittal, S., Kaur, H., Gautam, N., & Mantha, A. K. 2017. Biosensors for breast cancer diagnosis: A review of bioreceptors, biotransducers and signal amplification strategies. *Biosensors and Bioelectronics*, 88, 217-231.
- [13]Romond, E.H.; Perez, E.A.; Bryant, J.; Suman, V.J.; Geyer, C.E., Jr.; Davidson, N.E.; Tan-Chiu, E.; Martino, S.; Paik, S.; Kaufman, P.A.; et al. 2005. Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer. *N. Engl. J. Med.* 353, 1673-1684.
- [14]Wignarajah, S., Chianella, I., & Tothill, I. E. 2023. Development of Electrochemical Immunosensors for HER-1 and HER-2 Analysis in Serum for Breast Cancer Patients. *Biosensors*, 13(3), 355.
- [15]Knapp, Sarah. 2020. Western Bloth. <https://biologydictionary.net/western-blot/>
- [16]Moina, C., & Ybarra, G. 2012. Fundamentals and applications of immunosensors. *Advances in immunoassay technology*, 65-80.
- [17]Wu, X., Wang, Y., Zhang, J., Zhang, Y., Rao, X., Chen, C., Liu, H., Deng, Y., Liao, C., Smietana, M. J., Chen, G. Y., Liu, L., Qu, J., & Wang, Y. 2023. A D-Shaped Polymer Optical Fiber Surface Plasmon Resonance Biosensor for Breast Cancer Detection Applications. *Biosensors*, 14(1), 15. <https://doi.org/10.3390/bios14010015>
- [18]Pileri, T., Sinibaldi, A., Occhicone, A., Giordani, E., Allegretti, M., Munzert, P., & Michelotti, F. 2021. Optical multiplexed bioassays on photonic crystals for breast cancer biomarker

detection. In EPJ Web of Conferences (Vol. 255, p. 13003). EDP Sciences.

[19]Rahmadian, C. 2017. Uji Performansi Prototipe Breakwater Sebagai Pembangkit Listrik Berbasis Piezoelektrik (Doctoral dissertation, Universitas Brawijaya).

Migoń, Dorian & Wasilewski, Tomasz & Suchy, Dariusz. 2020. Application of QCM in Peptide and Protein-Based Drug Product Development. *Molecules*. 25. 3950. 10.3390/molecules25173950.