

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Oral leukoplakia (OL) merupakan lesi pada mukosa mulut yang didominasi putih, tidak dapat dikerok. OL didiagnosis melalui eksklusi diagnosis lesi serupa lain yang tidak memiliki risiko keganasan. Variasi transformasi OL menuju kanker mulut cukup luas, yaitu 0.1%-36% (Li et al., 2022; Ranganathan dan Kavitha, 2019; Yanik et al., 2015). Faktor risiko yang paling sering dikaitkan adalah penggunaan tembakau, konsumsi alkohol, dan penggunaan olahan pinang (sirih) menjadi risiko yang signifikan di Asia Selatan dan Tenggara (Carrard dan van der Waal, 2018; S. Shah et al., 2018; Warnakulasuriya dan Chen, 2022). Menurut *meta-analyses* yang ditulis Mello *et al*, prevalensi OL di seluruh dunia hingga 2018 mencapai 4,11%, dengan insiden tertinggi terjadi pada populasi Asia (7,77%) (Mello et al., 2018).

Jika OSCC tidak segera didiagnosis sejak dini, maka prognosis menjadi buruk dengan tingkat kelangsungan hidup selama 5 tahun hanya 40%. Namun, jika dapat didiagnosis pada tahap awal (I dan II), tingkat kelangsungan hidup dapat melebihi 80% (Abati et al., 2020; Silverman et al., 2010; Warnakulasuriya, 2009). Keterlambatan dapat disebabkan oleh pendekatan medis yang salah selain dari faktor pasien, seperti kegagalan dalam menduga keganasan pada rongga mulut dan kegagalan untuk mendiagnosis dan mengobatinya secara tepat waktu dan tepat (Abati et al., 2020; Groome et al., 2011; McCullough et al., 2010).

Perawatan pencegahan pasien pada tahap OL dianggap sebagai salah satu perawatan terbaik dalam langkah pencegahan terjadinya kanker mulut karena variasi transformasi keganasannya hingga 36% (Warnakulasuriya dan Ariyawardana, 2016). Produk yang bersifat alami menjadi salah satu pilihan terbaik dalam langkah pencegahan karena memiliki keragaman struktur dan sifat kimia yang unik dapat menghasilkan efek fisiologis dan farmakologis dalam tubuh secara multi target yang bisa berinteraksi dengan lebih banyak molekul biologis, enzim, dan protein sehingga memiliki potensi dalam pencegahan terjadinya resistensi obat dan memiliki lebih sedikit efek samping. Senyawa alami tersebut salah satunya adalah kedelai (*Glycine max*) (Lin et al., 2014; Mathur dan Hoskins, 2017; Ramshankar dan Krishnamurthy, 2014). Di Indonesia, kedelai merupakan salah satu komoditi pangan utama yang bernilai gizi tinggi. Kedelai sering dikonsumsi sebagai bahan pangan dalam bentuk tahu dan tempe. (Pusat Data dan Informasi Pertanian, 2021).

Di Jepang, yang memiliki populasi dengan asupan makanan yang tinggi dari produk kedelai, tingkat kejadian beberapa jenis kanker sangat rendah, antara lain kanker payudara, usus besar, dan prostat (Arafa et al., 2022; Kurahashi et al., 2007; Nagata et al., 2014; Shimazu et al., 2010). Beberapa komposisi dalam kacang kedelai dapat berfungsi sebagai agen kemopreventif kanker pada populasi manusia. Komposisi tersebut termasuk inositol hexaphosphate (asam fitat), sterol, beta-sitosterol, isoflavon, genistein, dan *Bowman-Birk Inhibitor* (BBI). BBI merupakan senyawa inhibitor protease berupa senyawa turunan yang diisolasi dari kedelai yang telah dilaporkan dapat menekan perkembangan kanker (Miao et al., 2019; Sato et al., 2021).

BBI telah terbukti memiliki aktivitas antikarsinogenik yang paling kuat dalam sistem model karsinogenesis hewan pada berbagai sel tumor dibandingkan dengan agen kemopreventif kanker potensial lainnya dalam kedelai (Lin *et al.*, 2014; Miao *et al.*, 2019; Sato *et al.*, 2021). Selain itu, penelitian BBI sebagai agen kemopreventif dalam bentuk konsentrat 95% dilanjutkan dengan mengamati efeknya terhadap OL melalui studi klinis pada manusia (Armstrong *et al.*, 2013; Armstrong, Kennedy, Steven Wan, *et al.*, 2000; Armstrong, Kennedy, Wan, *et al.*, 2000) Alur uji klinis dari BBI ini sudah merupakan alur yang tepat, yaitu dimulai dengan penilaian data epidemiologi/observasi, berlanjut ke penyelidikan preklinis seperti *in vitro* dan *in vivo*, pengujian fase I/II dengan validasi *biomarker*, dan akhirnya, evaluasi dalam studi acak. Namun, meskipun dengan alur yang benar dan rasional seperti ini, hasil yang ditunjukkan masih kurang berhasil untuk menunjukkan bahwa penelitian mengenai BBI ini harus dilanjutkan, karena dilihat dari penelitian uji klinis terakhir yang cenderung kurang memuaskan. Hasil menunjukkan bahwa secara bersamaan, BBI dengan pembandingnya yaitu plasebo sama-sama menghasilkan pengurangan area lesi dan tidak ada perbedaan yang signifikan pada parameter lainnya (Armstrong *et al.*, 2013; William dan Papadimitrakopoulou, 2013).

Terdapat beberapa alasan yang menjadi latarbelakang penelitian BBI sebagai agen kemopreventif pada OL berhenti, salah satunya adalah sulitnya mencari subjek penelitian. Pada uji klinis terakhir, direncanakan untuk menggunakan lebih dari 500 subjek, namun akhirnya hanya 17% (89 subjek) yang masuk dalam kriteria subjek penelitian sekaligus bersedia untuk mengikuti alur penelitian (Armstrong *et al.*, 2013; Mulshine dan Ondrey, 2013). Hal ini menjadi tantangan yang umum dalam

uji klinis senyawa kemopreventif dan spesifik pada OL. Selain itu, masalah spesifik yang ditemui pada OL adalah sulitnya melakukan skrining hingga didapatkan penegakkan diagnosis leukoplakia yang tepat, terlebih jika dalam subjek berjumlah banyak (Mulshine dan Ondrey, 2013).

Hal penting lainnya yang menjadi alasan penelitian BBI ini terhambat adalah dibutuhkan rancangan ulang terkait penentuan parameter akhir dari uji senyawa antikanker. Metode yang digunakan dalam uji klinis BBI ini di antaranya adalah perubahan luas lesi sebelum dan sesudah diberikannya perawatan BBIC melalui pemeriksaan klinis. Hasil tersebut merupakan parameter akhir yang kurang baik, karena perkembangan keganasan pada OL tidak hanya ditentukan berdasarkan luas lesi dan masih sangat banyak faktor yang mempengaruhi perubahan luas lesi tersebut, sehingga sulitnya mencari kaitan yang tepat antara perubahan luas lesi dengan perkembangan keganasan OL menjadi kanker mulut yang invasif (Mulshine dan Ondrey, 2013). Hasil evaluasi ini mengarah kepada perancangan ulang parameter akhir lainnya yang lebih akurat. Proses tersebut akan menghabiskan waktu yang lama, sehingga keterbatasan yang paling besar dalam uji klinis senyawa kemopreventif adalah penentuan parameter akhir yang tepat (William dan Papadimitrakopoulou, 2013).

Respon klinis ataupun histologis pada OPMD yang dihasilkan dari perawatan agen kemopreventif terhadap OPMD akan menjadi valid dan dapat diandalkan jika parameter yang dijadikan acuan dapat meniru *marker* yang pada kanker mulut yang bersifat invasif. Parameter yang berbasis *marker* secara molekuler bisa menjadi solusi yang tepat pada studi kemopreventif terutama yang terdeteksi di kanker mulut yang sudah invasif, karena dapat menggambarkan perbandingan nilai yang

jenis antara mukosa normal dengan kanker mulut karena sifatnya yang terdeteksi normal dalam mukosa normal dan tinggi pada kanker mulut yang invasif. Beberapa *marker molekuler* yang dijadikan rekomendasi oleh penulis (William dan Papadimitrakopoulou, 2013) diantaranya adalah ketidakseimbangan alel kromosom, p53, ekspresi berlebih pada podoplanin, EGFR, peningkatan gen EGFR, cyclin D1, ekspresi gen spesifik, dan kerusakan DNA spesifik.

Studi fase 0 dapat menjadi fasilitator dalam mencari *marker* molekuler yang tepat dari sekian banyak *marker* lainnya, sehingga nantinya *marker* yang muncul sebagai respon perawatan dan *marker* yang merepresentasikan berkurangnya risiko kanker dapat diidentifikasi (Reid et al., 2011). Peran teknologi kimia berbasis komputasi (*in silico*) merupakan salah satu studi fase 0 yang dapat memberikan kemudahan dalam perkembangan obat karena mampu menggambarkan mekanisme kerja senyawa kandidat obat beserta peran sifat fisikokimianya pada interaksi obat-reseptor yang spesifik (Pinzi dan Rastelli, 2019; Sethi et al., 2019; Siswandono, 2016b, 2016a; T. Y. Wang et al., 2018). Metode studi *in silico* memiliki banyak keuntungan, diantaranya mengurangi jumlah hewan coba yang digunakan pada saat percobaan serta dapat mengetahui mekanisme senyawa kandidat obat terhadap targetnya dalam bentuk visualisasi. Oleh karena itu, upaya pencarian, penemuan, dan pengembangan obat yang aman dan efektif pada penelitian ini dikembangkan dengan melakukan skrining beberapa *biomarker* yang berperan dalam perkembangan keganasan pada oral leukoplakia (Kumar dan Kumar, 2019; Mirza, 2019). Metode *molecular docking* menjadi salah satu metode *in silico* yang dapat digunakan untuk mengamati interaksi antara BBI dengan *biomarker-biomarker* tersebut. *Molecular docking* berperan dalam memprediksi ikatan antara

ligan dengan target (Kumar dan Kumar, 2019; Santos et al., 2019) sehingga metode ini akan bermanfaat untuk skrining senyawa obat dengan protein target dalam jumlah yang banyak dan waktu yang relatif cepat sekaligus (Amaro et al., 2018; Kumar dan Kumar, 2019; Shofi, 2022; Valerio, 2012).

Metode *molecular docking* bermanfaat untuk membuka lebih luas lagi informasi mengenai manfaat terapis sebuah obat yang telah diketahui karakteristiknya, terutama kaitannya dengan sebuah penyakit, dengan melakukan skrining virtual melalui metode *docking* secara molekuler pada suatu senyawa obat yang telah diketahui karakteristik farmakokinetik dan farmakodinamikanya dengan berbagai target reseptor yang berbeda (Kumar dan Kumar, 2019; March-Vila et al., 2017; Mullins, 2022).

Dalam penelitian ini, akan dilakukan skrining terhadap 6 *biomarker* yang telah dilaporkan berperan dalam perkembangan keganasan oral leukoplakia yang berpotensi menjadi target aktivitas biologis dari BBI, antara lain: pro-MMP-1 (*matrix metalloproteinase*), aldehyd dehidrogenase 1A1 (ALDH1A1), *epidermal growth factor* (EGFR), mutasi p53 R249S, dan cyclin D1.

Dengan demikian, dibutuhkan penelitian mengenai potensi BBI sebagai senyawa kemopreventif dan agen antikanker terhadap protein yang berperan dalam perkembangan OL dapat diteliti dan dikaji ulang melalui uji *molecular docking*, sehingga penelitian mengenai BBI sebagai senyawa kemopreventif dapat kembali dilanjutkan dengan metode yang lebih baik.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah senyawa BBI memiliki potensi sebagai senyawa antikanker terhadap pro-MMP-1, ALDH1A1, EGFR, mutasi p53 R249S, dan cyclin D1 sebagai *biomarker* pemicu perkembangan keganasan pada oral leukoplakia?

1.3 Tujuan

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui potensi senyawa BBI sebagai senyawa antikanker terhadap pro-MMP-1, ALDH1A1, EGFR, mutasi p53 R249S, dan cyclin D1 sebagai *biomarker* pemicu perkembangan keganasan pada oral leukoplakia.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui kecocokan residu asam amino, ikatan intermolekuler, dan besar energi ikat bebas yang dihasilkan dari kompleks *docking* senyawa BBI dengan pro-MMP-1, ALDH1A1, EGFR, mutasi p53 R249S, dan cyclin D1 sebagai *biomarker* pemicu perkembangan keganasan pada oral leukoplakia.

1.4 Manfaat

1.4.1 Manfaat Teoritis

Hasil penelitian dapat menjadi sumber informasi mengenai interaksi keterikatan BBI terhadap pro-MMP-1, ALDH1A1, EGFR, mutasi p53 R249S, dan cyclin D1 sebagai *biomarker* pemicu perkembangan keganasan pada oral leukoplakia

1.4.2 Manfaat Praktis

1. Hasil penelitian dapat dikembangkan lebih lanjut secara *in silico* untuk melihat interaksi molekuler secara dinamis yang mensimulasikan bioavailabilitas, farmakodinamik, dan interaksi dinamis lainnya seperti di dalam tubuh manusia.
2. Hasil penelitian dapat dikembangkan lebih lanjut untuk dilakukan skrining antara BBI dengan lebih banyak lagi cakupan reseptor yang berperan sebagai *biomarker* dalam perkembangan keganasan pada oral leukoplakia.