

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Kanker

1. Definisi

Kanker atau tumor ganas adalah pertumbuhan sel/jaringan yang tidak terkendali, terus tumbuh atau bertambah dan tidak dapat mati (Depkes RI, 2013), sedangkan menurut Dipiro *et al* (2008) kanker adalah sekelompok penyakit yang ditandai dengan pertumbuhan sel yang tidak terkendali, invasi jaringan lokal dan metastasis jauh.

Kanker rongga mulut merupakan bagian dari kanker kepala dan leher, yang berkembang di setiap tempat dari rongga mulut atau orofaring. Sebagian besar kanker mulut dimulai dari sel skuamosa yang melapisi mulut, lidah serta bibir. Menurut Sudiono (2007) kanker seperti ini dinamakan Karsinoma Sel Skuamosa/*Oral Squamous Cell Carcinoma* (OSCC). Karsinoma sel skuamosa merupakan tumor ganas rongga mulut yang paling sering dijumpai, yang mencapai lebih dari 90% dari seluruh angka kejadian kanker rongga mulut (Alhazzi *et al.*, 2011).

Secara genetik, ada banyak penyimpangan kromosom yang dapat ditemukan pada sebagian besar jenis kanker, khususnya kanker oral, misalnya penyimpangan yang terkait pada gen penting seperti *TP53* di *17p13*, *RBI* di *13q14*, atau gen *CDKN2A* di *9p21* (Tsantoulis *et al.*, 2006). Gen *polimorfisme* dari 3 enzim *Glutation-S-Transferase* (*GSTT1*), *Glutation peroksidase* (*GPX*),

dan *Glutation reduktase* (GSR) secara signifikan dipantau sebagai referensi kanker oral (Rashi *et al.*, 2011).

2. Epidemiologi

Lebih dari 20 juta orang di belahan dunia terdiagnosis kanker, dan setengah dari semua kasus kanker di dunia terjadi pada negara berkembang (Petersen, 2008). Pada tahun 2007 diperkirakan 1,4 juta kasus kanker terdiagnosis, dan diperkirakan kasus kanker terdiagnosis pada 559.650 jiwa di Amerika Serikat (Dipiro *et al.*, 2008). Dan khusus di Indonesia, kasus kanker rongga mulut berkisar 3-4% dari seluruh kasus kanker yang terjadi, dengan angka kematian 2-3% dari seluruh kematian akibat keganasan (Sirait, 2013).

3. Faktor-faktor Predisposisi

Sampai saat ini belum diketahui secara pasti penyebab kanker rongga mulut. Namun diperkirakan ada banyak faktor yang bisa menyebabkan terjadinya kanker rongga mulut. Faktor lokal penyebab kanker rongga mulut adalah kebersihan mulut yang kurang baik, karies gigi dan iritasi kronis dari restorasi, sedangkan faktor luar seperti merokok, konsumsi alkohol, menyirih, virus (*Human Papiloma Virus/HPV*), dan faktor *host* yang meliputi usia, jenis kelamin, nutrisi imunologik dan genetik (Sirait, 2013).

4. Terapi Farmakologis

Menurut beberapa penelitian, agen antikanker yang umum digunakan untuk terapi kanker oral adalah Cisplatin, tapi dari studi *meta-analisis* yang dilakukan Andreadis (2003), kombinasi agen kemoterapi Cisplatin dan 5-Fluoro

Urasil lebih efektif terhadap OSCC dan mampu meningkatkan kualitas hidup pasien.

Dalam sebuah *guideline* klinik, pada tahap awal yaitu stadium I sampai II, dapat dilakukan pembedahan konservatif atau radoterapi (radioterapi eksternal atau *brachytherapy*), dan pilihan standar untuk stadium lanjutan yaitu stadium II sampai IV adalah operasi termasuk rekonstruksi disertai radioterapi pasca operasi dan untuk pasien operasi yang memiliki resiko ekstensi *nodal extracapsular*, pada pasca operasi digunakan kemoradioterapi (CRT) dengan menggunakan agen platinum (Gregoire *et al.*, 2010).

B. Sirtuin-3

1. Famili Sirtuin

Sirtuin adalah protein *deasetilase* atau *ADP ribosil transferase* yang memiliki rentang target yang luas pada protein seluler dalam inti sel, sitoplasma dan mitokondria (Saunders and Verdin, 2007). *Sirtuin* secara garis besar banyak ditemukan pada *eubakteria*, spesies *arachea* dan *eukariotik*, tapi pada *prokariotik (eubakteria)* dan spesies *aracheae* hanya terdapat 1 atau 2 homolog sirtuin saja, sedangkan pada manusia (*eukariotik*) terdapat banyak macam homolog *Sirtuin*, sampai saat ini baru diketahui 7 macam dan keseluruhan merupakan protein bebas *Nikotinamid Adenin Dinukleotid (NAD)-deasetilase* (Constantini *et al.*, 2013). Tabel 1 menunjukkan homolog *Sirtuin* dan letaknya.

Tabel 1. *Sirtuin* dan Letaknya

<i>Sirtuin</i>	Letak
<i>Sirtuin-1</i>	Nukleus, sitosol
<i>Sirtuin-2</i>	Sitosol
<i>Sirtuin-3</i>	Mitokondria
<i>Sirtuin-4</i>	Mitokondria
<i>Sirtuin-5</i>	Mitokondria
<i>Sirtuin-6</i>	Nukleus
<i>Sirtuin-7</i>	Nukleolus

Dari penelitian sebelumnya, *Sirtuin* diketahui dapat memodulasi kadar *Reactive Oxygen Species* (ROS) yang bersifat sebagai restriksi pada kalori dan dapat meningkatkan kualitas hidup pada kebanyakan makhluk hidup (Merksamer *et al.*, 2013)

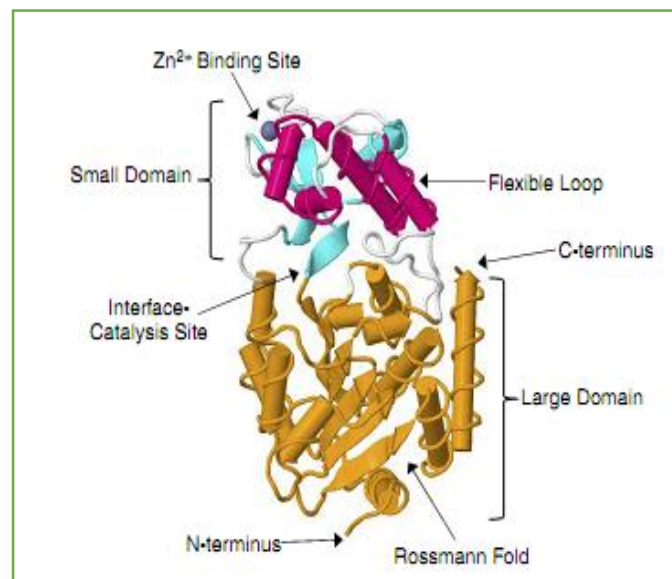
**Gambar 1.** *Sirtuin-3*

(Chen *et al.*, 2014)

Pada saat ini diketahui terdapat 7 macam *Sirtuin*, yaitu *Sirtuin 1-7* yang merupakan homolog manusia yang terdapat dalam kelompok ragi (*yeast*) yang berperan penting dalam karsinogenesis (Alhazzi *et al.*, 2011). *Sirtuin-3* (Gambar.1) diketahui memiliki sifat mitokondrial yang berperan mengatur kualitas hidup sel, dan mengatur keseimbangan antara sel sehat dan sel mati (Chen *et al.*, 2014).

2. Struktur *Sirtuin-3*

Sirtuin-3 berisi inti enzimatis yang dikonservasi dengan dua domain, termasuk lipatan domain *Rossmann* besar (*Large Rossmann Fold*) yang mengikat NAD^+ dan domain kecil yang dibentuk oleh dua sisipan dari domain besar yang mengikat atom *zinc* (*Zn*) (Gambar.2), struktur kristal *Sirtuin-3* dengan asetilasi AceCS2 peptida menunjukkan *Sirtuin-3* dapat membentuk kompleks yang stabil dengan *peptide* substrat tanpa NAD^+ (Nogueiras *et al.*, 2012).

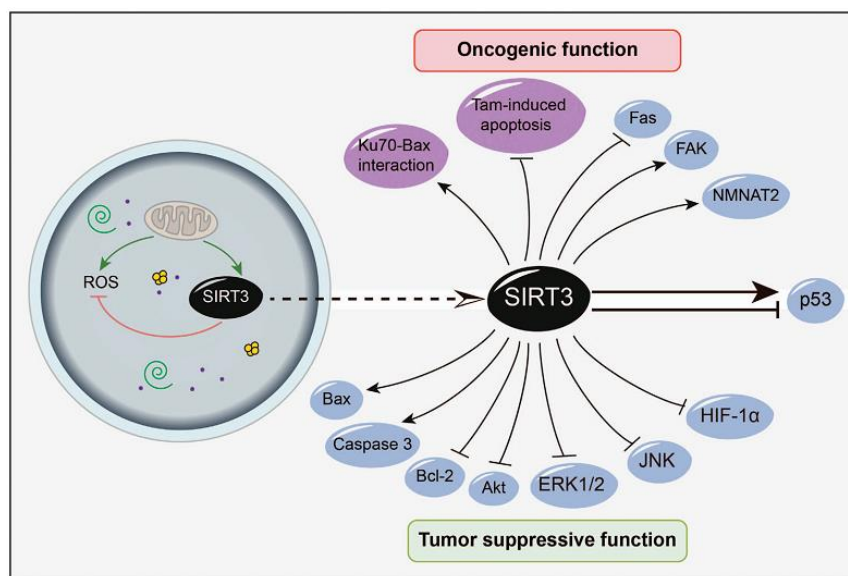


Gambar 2. Struktur *Sirtuin-3*

(Nogueiras *et al.*, 2012)

3. Fungsi *Sirtuin-3*

Sirtuin-3 mempunyai fungsi supresi tumor yang luas (Gambar.3), antara lain sebagai induser *apoptosis* selektif pada BCL-2 dalam HCT-116 kanker epitel manusia, pengatur *apoptosis* pada *c-Jun N-Terminal Kinase 2* (JNK2), inaktivasi *Akt*, aktivasi *Caspase-3*, aktivasi *Sirtuin-3* dapat terjadi akibat paparan senyawa antioksidan tertentu seperti Resveratrol dan Oroxylin A (Chen *et al.*, 2014).



Gambar 3. Sifat *Sirtuin-3*

(Chen *et al.*, 2014)

C. Skrining *Virtual*

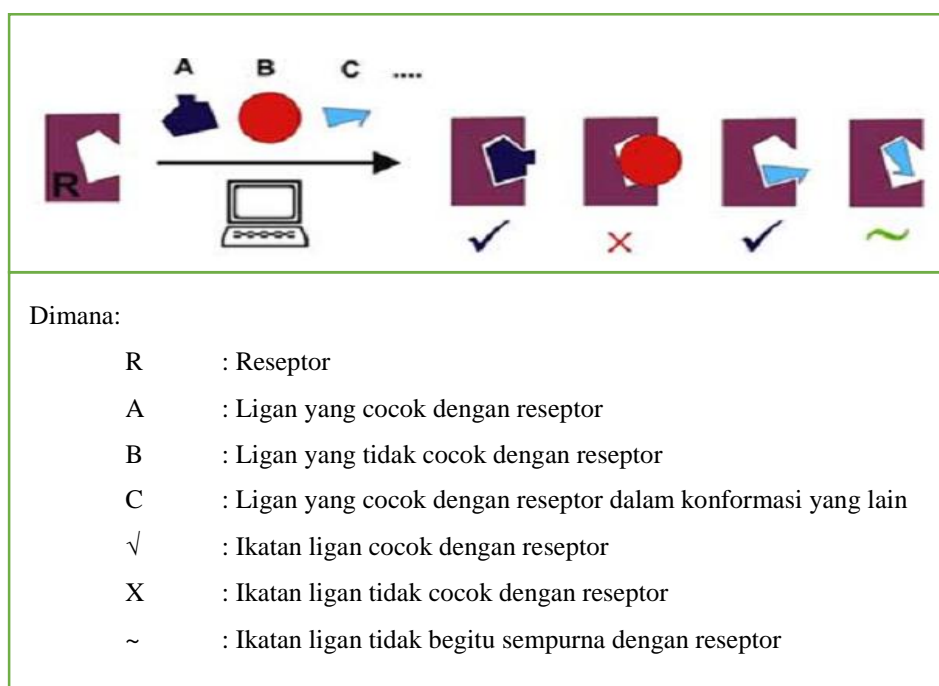
Skrining *virtual* (*Virtual screening*) adalah penggunaan komputasi kinerja tinggi untuk menganalisis basis data senyawa kimia untuk mengidentifikasi kemungkinan suatu struktur kimia dapat dijadikan kandidat obat baru, dan merupakan teknologi yang melengkapi kemajuan saat ini dalam sintesis struktur kimia terbaru dan uji biologis (Waszkowycz *et al.*, 2001). Tujuan dasar *Virtual screening* adalah untuk mensintesis, untuk visualisasi protein target khusus dan

untuk mengelola senyawa secara *virtual* untuk memperoleh senyawa baru sebagai kandidat senyawa obat (Vyas *et al.*, 2008).

1. Aplikasi *Molecular Docking*

Penambatan molekuler (*Molecular docking*) adalah metode komputasi yang bertujuan untuk meniru peristiwa interaksi suatu molekul ligan dengan protein yang menjadi targetnya pada uji *in vitro* (Motiejunas *and* Wade, 2006).

Pada umumnya, tujuan utama penambatan molekul adalah untuk pemodelan struktural secara akurat dan prediksi aktivitas suatu senyawa secara tepat (Kitchen *et al.*, 2004). Penambatan molekul juga digunakan untuk mendapatkan nilai energi ikatan konformasi yang paling rendah dengan afinitas yang paling tinggi (Kroemer, 2007).



Gambar 4. Prinsip Dasar Penambatan Molekul

(Kroemer, 2007)

Ada banyak aplikasi yang umum digunakan untuk melakukan *virtual screening* dengan metode *molecular docking*, yaitu *Protein-Ligand Ant System* (PLANTS), GOLD, *Molecular Operating Environment* (MOE), *Molegro Virtual Docking* (MVD), dan *Autodock* (Korb *et al.*, 2006). Pada dasarnya cara kerja dari beberapa aplikasi tersebut dapat digambarkan pada Gambar 4.

2. Penambatan Molekul (*Molecular Docking*) PLANTS

PLANTS adalah aplikasi yang berbasis pada kelas optimasi algoritma yang disebut *Ant Colony Optimization* (ACO), konsep ACO ini terinspirasi dari perilaku semut yang mencari sumber makanan dengan jalur paling singkat dari sarang mereka, hal tersebut dalam *molecular docking* bisa dianalogikan dengan pencarian nilai energi konformasi minimum terhadap ikatan ligan dengan protein targetnya (Purnomo, 2013).

Aplikasi PLANTS adalah aplikasi yang berdasarkan *MAX-MIN Ant System* (MMAS), berdasarkan nilai-nilai feromon dan informasi heuristik, dan suatu nilai untuk setiap derajat kebebasan (Korb *et al.*, 2006).

Aplikasi PLANTS hanya bisa dijalankan dengan menggunakan system operasi Linux, karena aplikasi PLANTS ini merupakan aplikasi sederhana yang hanya bisa dijalankan dengan menggunakan kode perintah pada terminal Linux. Dalam melakukan penambatan molekul PLANTS ini juga dibutuhkan beberapa aplikasi pendukung seperti YASARA untuk preparasi protein, *Marvin Sketch* untuk preparasi ligan dan *Visual Molecular Dynamics* (VMD) untuk visualisasi hasil penambatan dalam bentuk 3D.

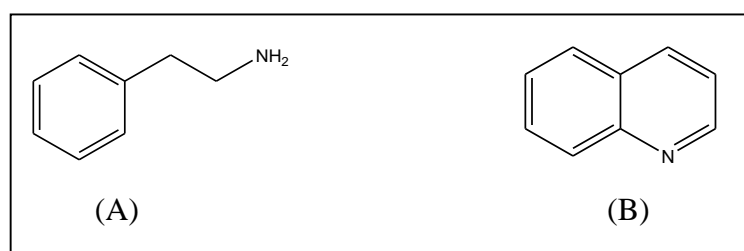
D. Senyawa *Marker*

Senyawa *marker* atau penanda merupakan senyawa yang terdapat dalam bahan alam dan dideteksi untuk keperluan khusus seperti untuk tujuan identifikasi atau standardisasi melalui penelitian (Young *et al.*, 2005).

Indonesia memiliki keragaman hayati yang sangat tinggi, termasuk keragaman tanaman obat yang mengandung golongan senyawa tertentu yang mempunyai efek farmakologis. Terdapat seribu (1.000) jenis tanaman dinyatakan dapat digunakan sebagai tanaman obat, dimana baru 350 *spesies* yang telah banyak digunakan di kalangan masyarakat dan industri sebagai bahan baku obat (POM RI, 2010).

1. Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa fitokimia yang paling banyak ditemukan di alam. Semua alkaloida mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa. Atom nitrogen yang ada pada senyawa alkaloid ada yang letaknya di dalam lingkaran benzena (*heterosiklik*) seperti yang diperlihatkan Gambar 5 (B), dan ada yang atom nitrogennya terdapat di luar lingkaran benzena (*non heterosiklik*) seperti pada Gambar 5 (A). (Lieu, 2012).



Gambar 5. (A). Alkaloid *Non Heterosiklik* (B). Alkaloid *Heterosiklik*

a. Alkaloid *Non Heterosiklik*

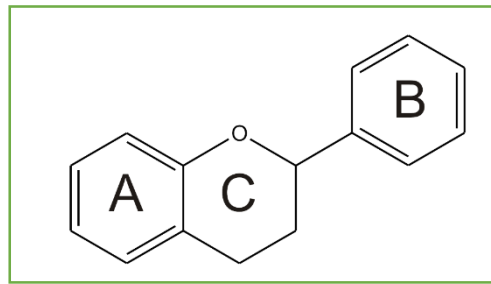
Senyawa alkaloid *non heterosiklik* (Gambar 5 A) adalah senyawa alkaloid yang letak atom nitrogennya ada di luar cincin benzena. Contoh turunan senyawa ini adalah senyawa *efedrin* yang umumnya terkandung dalam tumbuhan Ma Huang (*Ephedra sinica*) dan golongan senyawa ini sedang diteliti untuk pengobatan obesitas (Correa and Zapparoli, 2012).

b. Alkaloid *Heterosiklik*

Senyawa alkaloid *heterosiklik* adalah senyawa alkaloid yang letak atom nitrogennya ada di dalam ikatan cincin benzena. Salah satu contoh senyawa alkaloid heterosiklik adalah *kuinolin* (Gambar 5 B). *Kuinolin* banyak terkandung dalam tumbuhan *Cinchona* dan diketahui memiliki banyak efek farmakologis seperti antimalaria, antiparasit khususnya *Leishmania sp.* yang merupakan agen *leishmaniasis*, antikanker, antibakteri khususnya *Mycobacterium tuberculosis*, antiradang dan aktivitas kardiovaskuler (Kumar *et al.*, 2009).

2. Flavonoid

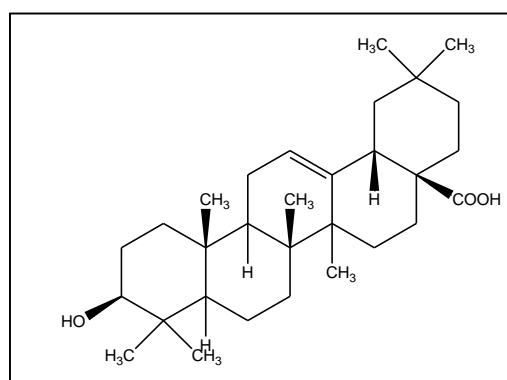
Flavonoid adalah golongan senyawa yang secara garis besar adalah golongan polifenolik yang bersumber dari buah-buahan, sayur-sayuran, dan bahan alam lain yang digunakan sebagai bahan baku obat herbal. Dari berbagai penelitian diketahui flavonoid secara garis besar mempunyai efek antioksidan, antiradang, antimutagenik dan antikanker (Tapas *et al.*, 2008). Pada umumnya senyawa flavonoid mempunyai ciri-ciri seperti yang diperlihatkan pada Gambar 6, yaitu terdapat 3 cincin *heterosiklik*.



Gambar 6. Struktur Dasar Flavonoid

3. Terpenoid

Terpenoid secara garis besar adalah senyawa yang termasuk ke dalam golongan hidrokarbon yang banyak ditemukan di tanaman obat. Pada umumnya senyawa terpenoid memiliki ciri khas yaitu memiliki atom karbon (atom C) berkelipatan 10 seperti yang disajikan pada tabel 2, dan membentuk struktur seperti pada Gambar 7. Terpenoid adalah metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman yang memiliki efek farmakologis seperti antivirus, antibakteri, antimalaria, antiradang, penghambat sintesis kolesterol dan antikanker (Nassar *et al.*, 2011).



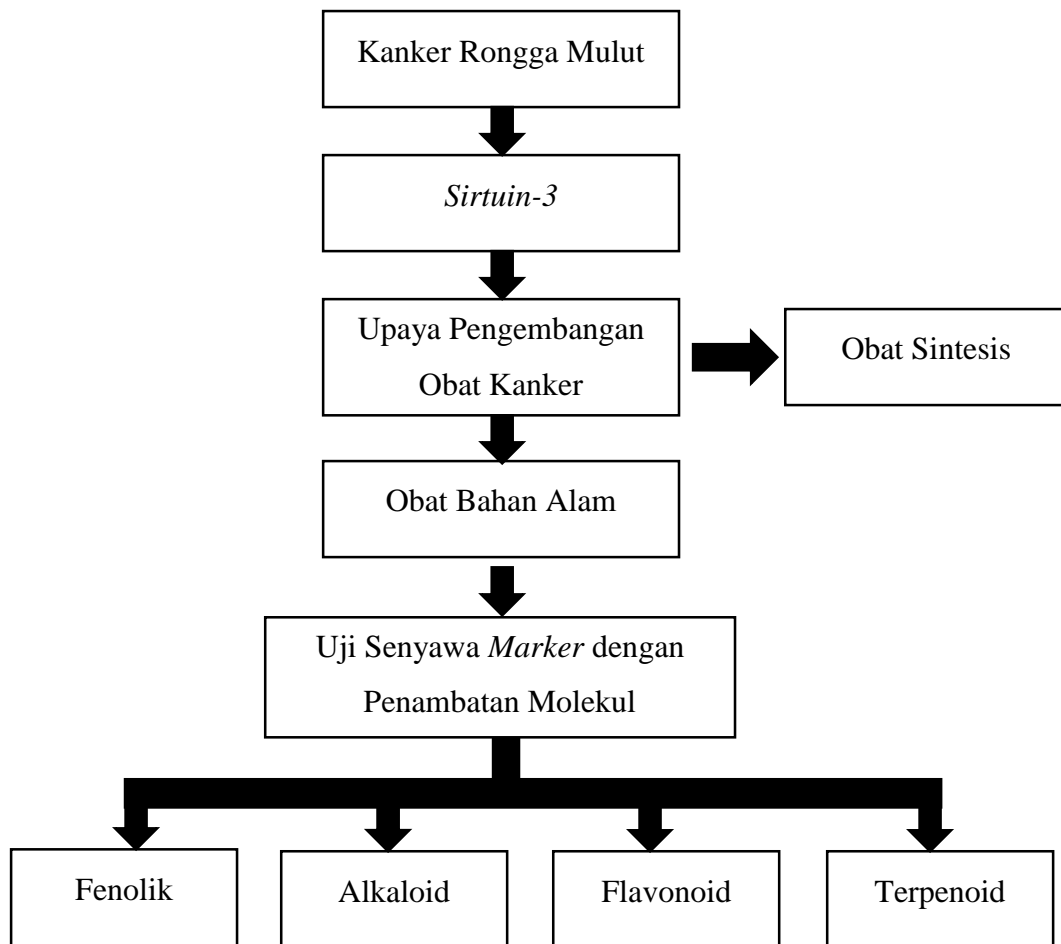
Gambar 7. Senyawa Terpenoid

Tabel 2. Golongan Senyawa Terpenoid

Nama	Rumus	Sumber
Monoterpen	$C_{10}H_{16}$	Minyak Atsiri
Diterpen	$C_{20}H_{32}$	Resin Pinus
Triterpen	$C_{30}H_{48}$	Saponin, Damar
Tetraterpen	$C_{40}H_{64}$	Pigmen, Karoten
Politerpen	$(C_5H_8)_n$ n8	Karet Alam

E. Kerangka Konsep

Kasus kanker rongga mulut di Indonesia berkisar 3-4% dari seluruh kanker yang terjadi. Angka kematiannya 2-3% dari seluruh kematian akibat keganasan. *Sirtuin-3* adalah salah satu polimer *Sirtuin* yang terdapat pada mitokondria yang diketahui memiliki sifat mitokondrial yang berperan mengatur kualitas hidup sel, dan mengatur keseimbangan antara sel sehat dan sel mati. Dengan aktivasi enzim *Sirtuin* oleh golongan senyawa yang berpotensi sebagai aktivator *Sirtuin-3*, dapat dilakukan upaya pengembangan senyawa obat antikanker khususnya kanker oral. Upaya pengembangan senyawa obat antikanker dapat dilakukan dengan menggunakan metode *in silico*, yaitu penambatan molekul (*molecular docking*) senyawa *marker* seperti senyawa golongan alkaloid, flavonoid, fenolik dan terpenoid sebagai aktivator enzim *Sirtuin-3* secara komputasi seperti yang diperlihatkan pada Gambar.8.



Gambar 8. Kerangka Konsep

F. Hipotesis

Berdasarkan kerangka konsep di atas, dapat dirumuskan hipotesis bahwa

1. Senyawa aktivator *Sirtuin-3* yang paling berpotensi adalah senyawa golongan polifenolik dan golongan alkaloid.
2. Semakin minimum skor penambatan dari suatu senyawa, maka semakin baik ikatannya dan semakin tinggi afinitasnya.
3. Senyawa *marker* yang diperkirakan berpotensi sebagai aktivator *Sirtuin-3* adalah senyawa yang menghasilkan skor penambatan dengan nilai di bawah -90.