

**REVIEW: ENZIM TRIPSIN INHIBITOR YANG BERPOTENSI DALAM
PENGOBATAN TERAPI KANKER KOLOREKTAL**

ARTIKEL ILMIAH

Laporan Tugas Akhir

**Yulia April Yulianti
11171118**



**Universitas Bhakti Kencana
Fakultas Farmasi
Program Strata I Farmasi
Bandung
2021**

LEMBAR PENGESAHAN

Laporan Tugas Akhir

**REVIEW: ENZIM TRIPSIN INHIBITOR YANG BERPOTENSI DALAM
PENGOBATAN TERAPI KANKER KOLOREKTAL**

ARTIKEL ILMIAH

Laporan Tugas Akhir

Diajukan untuk memenuhi syarat kelulusan Program Strata I Farmasi

**Yulia April Yulianti
11171118**

Bandung, 23 Juni 2021

Menyetujui,

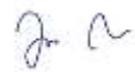
Pembimbing Utama,

Pembimbing Serta,



(Soni Muhsinin, M.Si)

NIDN. 0402068407



(Ira Adiyati Rum, M.Si)

NIDN.0403048105

ABSTRAK

REVIEW: ENZIM TRIPSIN INHIBITOR YANG BERPOTENSI DALAM PENGOBATAN TERAPI KANKER KOLOREKTAL

Oleh :

Yulia April Yulianti

11171118

Enzim tripsin inhibitor (TI) merupakan enzim yang dapat digunakan untuk terapi kanker kolorektal. Tripsin inhibitor dapat menghambat aktivitas enzim tripsin yang menginduksi persinyalan NF- κ B dan MMPs yang memicu proliferasi sel, invasi dan metastasis kanker kolorektal. Tujuan review literatur ini adalah untuk melakukan penelusuran pustaka tentang organisme penghasil enzim tripsin inhibitor dan aktivitasnya terhadap kanker kolorektal. Metode yang digunakan yaitu dengan pengumpulan data penelitian studi pustaka yang telah terpublikasi seperti pada Google Scholar, Science Direct, MDPI, dan PubMed. Dari beberapa penelitian menunjukkan Enzim TI yang berpotensi untuk terapi kanker kolorektal berhasil di isolasi dari organisme (*Glycine max*, (Linn) Merrill), (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek), (*Pisum sativum* L), (*Lens culinaris*), (*Momordica charantia*) dengan metode purifikasi kromatografi filtrasi gel dan kromatografi ion. Aktivitas sitotoksitas ditunjukkan dengan nilai IC_{50} . TI atau Bowman-Birk inhibitor dengan nilai IC_{50} paling rendah menunjukkan aktivitas terbaik yang memberikan efek yang kuat dalam menginduksi apoptosis dan menekan pertumbuhan sel HT29 kanker kolorektal.

Kata Kunci: Bowman-Birk inhibitor, Enzim tripsin inhibitor, Kanker kolorektal.

ABSTRACT

**REVIEW: A POTENTIAL INHIBITOR TRYPsin ENZYME IN THE TREATMENT
OF COLORECTAL CANCER**

By :

Yulia April Yulianti

11171118

*Trypsin inhibitor (TI) is an enzyme that can be used for colorectal cancer therapy. Trypsin inhibitors can inhibit the activity of trypsin enzymes that induce NF- κ B signaling and MMPs that trigger cell proliferation, invasion and metastasis of colorectal cancer. The purpose of this literature review is to conduct a literature search on trypsin inhibitor-producing organisms and their activity against colorectal cancer. The method used is by collecting published research data from literature such as on Google Scholar, Science Direct, MDPI, and PubMed. Several studies have shown that TI enzymes that may be used to treat colorectal cancer have been isolated from organisms (*Glycine max*, (Linn) Merrill), (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek), (*Pisum sativum* L), (*Lens culinaris*), (*Momordica charantia*) by purification method of gel filtration chromatography and ion chromatography. Cytotoxicity activity indicated by the IC₅₀ value. TI or Bowman-Birk inhibitor with IC₅₀ value showed the best activity which gave a strong effect in inducing apoptosis and suppressing the growth of colorectal cancer HT29 cells.*

Keywords: Bowman-Birk inhibitor, Enzyme trypsin inhibitor, Colorectal cancer,

KATA PENGANTAR

Puji syukur marilah kita panjatkan kehadiran Allah SWT. Berkat rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan Laporan Tugas Akhir berjudul "**Review Enzim Tripsin Inhibitor yang Berpotensi dalam Pengobatan Terapi Kanker Kolorektal**". Solawat beserta salam semoga tercurah limpahkan kepada Nabi besar kita yakni Muhammad SAW, kepada para sahabat, dan kepada kita selaku umatnya. Laporan tugas akhir ini disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan kelulusan Program Studi Strata 1 Farmasi Universitas Bhakti Kencana.

Menyadari bahwa selama penyusunan, pengerjaan, dan penyelesaian yang tidak dapat dilakukan seorang diri melainkan ada banyak pihak yang membantu dan mendukung secara materi, tenaga, dan moral.

Akhirnya dengan segala kerendahan hati, perkenankanlah penulis mengucapkan terimakasih yang tidak terhingga atas segala bantuan dan bimbingan yang telah diberikan dalam penyusunan proposal tugas akhir ini, kepada yang terhormat :

1. Bapak apt. Entris Sutrisno, S.Farm., MH.Kes. selaku Rektor Universitas Bhakti Kencana Bandung.
2. Bapak Soni Muhsinin, M.Si, Ibu Ira Adiyati Rum M.Si dan Ibu Rahma Ziska M.Si selaku pembimbing utama dan pembimbing serta yang telah bersedia meluangkan waktunya untuk membimbing dan memberikan arahan dan saran-saran sehingga penulis dapat menyelesaikan proposal ini.
3. Seluruh dosen pengajar yang telah memberikan ilmu dan bimbingan selama perkuliahan dan seluruh staf di Universitas Bhakti Kencana Bandung yang telah memberikan bantuan selama perkuliahan.

DAFTAR ISI

ABSTRAK.....	I
ABSTRACT.....	II
KATA PENGANTAR	III
DAFTAR TABEL.....	IV
DAFTAR GAMBAR	VII
DAFTAR LAMPIRAN	VIII
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG.....	IX
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Penelitian.....	3
1.3 Manfaat Penelitian	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Kanker Kolorektal.....	4
2.1.1 Pengertian Kanker Kolorektal	4
2.1.2 Etiologi Kanker kolorektal.....	5
2.1.3 Mekanisme Kanker Kolorektal	5
2.1.4 Pengobatan Kanker Kolorektal	6
2.2 Enzim Tripsin Inhibitor	8
2.2.1 Pengertian Enzim Tripsin inhibitor.....	8
2.2.2 Fungsi / Sifat Fungsional	9
2.2.3 Mekanisme Kerja Enzim.....	9
2.2.4 Organisme Penghasil Enzim.....	11
2.2.5 Aplikasi dalam Pengobatan	13
2.2.6 Contoh Obat tripsin inhibitor.....	16
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN.....	18
BAB IV. PROSEDUR PENELITIAN.....	19
BAB V. Hasil Artikel Ilmiah Literatur dan Pembahasan	20
5. 1 Hasil Kajian Literatur Review	20
5. 2 Pembahasan.....	21

BAB VI. SIMPULAN DAN SARAN.....	27
DAFTAR PUSTAKA	28

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Organisme penghasil enzim dan aktivitas tripsin inhibitor 11
Tabel 2. Aplikasi biomarker berdasarkan fungsinya (Califf., 2018) 13
Tabel 3. Hasil Temuan Literatur 18
Tabel 4. Metode purifikasi tripsin inhibitor dan aktivitas penghambat kanker kolorektal (IC50) 20

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Anatomi kolon dan rektal (Michael et al., 2013).....	4
Gambar 2. Stadium kanker kolorektal dari stage 0 – IV (Michael et al., 2013).	6
Gambar 3. Regimen terapi kanker kolorektal stage II dan III (Michael et al., 2013). ...	7
Gambar 4. Terapi metastatik kanker usus besar (Michael et al., 2013).	7
Gambar 5. struktur SKTI ditampilkan dalam model tiga dimensi. a). Enzim SKTI ditunjukkan dengan warna hijau, situs aktif warna kuning. b). Interaksi SKTI dengan enzim tripsin (merah). (Xu et al., 2020)	10
Gambar 6. Jarak ikatan hydrogen yang terbentuk oleh residu didaerah aktif. Backbone inhibitor dan protease ditampilkan dalam bentuk kartun. sticks menunjukkan residu yang terlibat interaksi penghambat enzim.....	10
Gambar 7. Mekanisme kerja kombinasi BBI dan genistein dalam menghambat produksi sitokin proinflamasi yang dilapisi LPS.....	15

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Format Surat Pernyataan Bebas Plagiasi	39
Lampiran 2. Format Surat Persetujuan untuk dipublikasikan di media online	40
Lampiran 3. Bukti Cek Plagiarisme Dari LPPM.....	41
Lampiran 4. Bukti Chat Perizinan Tanda Tangan Dosen Pembimbing	42
Lampiran 5. Lampiran Kartu Bimbingan TA-1 dan TA-2	43
Lampiran 6. Lampiran Letter of Acceptence (LoA)	47

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

SINGKATAN	MAKNA
KKR	Kanker Kolorektal
KTI	kunitz tripsin inhibitor
BBI	Bowman–Birk inhibitor
MMPs	<i>matrix metalloproteinases</i>
TI	Tripsin inhibitor
TATI	Tumor terkait tripsin inhibitor
TNF- α	Tumor Necrosis Factor-Alfa
INF- γ	Interferon-gamma
TIMP-1	metalloproteinase-1
PAR-2	<i>Proteinase-activated receptor 2</i>
SKTI	Soybean kunitz tripsin inhibitor
LzaBBI	<i>Luetzelburgia auriculata</i>
LPS	Lipopolisakarida
GRP78	<i>Glucose – regulated protein 78</i>
GBP-TI	Nama protein tripsin inhibitor dari kacang hijau
NF-kB	Nuclear Factor Kappa B

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker kolorektal (KKR) adalah kanker yang terjadi di usus besar (kolon) atau rektum. Badan internasional penelitian kanker memperkirakan insiden dan mortalitas kanker diseluruh dunia, diperkirakan kasus kanker baru mencapai 19.3 juta dan hampir 10 juta kematian akibat kanker yang terjadi pada tahun 2020 (Sung *et al.*, 2021). Pada Negara ASEAN kematian yang disebabkan oleh kanker biasanya terjadi pada kanker paru-paru (85.772), kanker hati (69.115) dan kanker kolorektal (44.280) (Kimman *et al.*, 2012). Kanker kolorektal merupakan keganasan tersering keempat di Indonesia, dengan 30.017 kasus baru dilaporkan pada tahun 2018 (Bray *et al.*, 2018).

Sampai saat penyebab dari kanker kolorekta belum diketahui secara pasti. Akan tetapi terdapat beberapa resiko yang mengakibatkan terjadinya kanker kolorektal seperti kelainan genetik dan faktor lingkungan (Padang & Rotty, 2020). Pemilihan terapi kanker kolorektal disesuaikan dengan kondisi patologisnya. Pengobatan penyakit ini dapat dilakukan melalui operasi, radioterapi, kemoterapi adjuvant. Terapi bedah bertujuan sebagai pengobatan kuratif untuk kanker stadium dini (NCCN., 2017). Karena residu mikroskopis sel kanker, perawatan bedah kanker kolorektal biasanya menyebabkan tingkat kekambuhan yang tinggi setelah operasi (Ryuk *et al.*, 2014). Kemoterapi adjuvan adalah terapi tambahan yang bertujuan untuk eliminasi residu mikroskopis sel kanker dan untuk menyembuhkan serta menurunkan risiko rekurensi pada pasien. Efek samping yang timbul setelah kemoterapi adjuvant berupa mual, muntah, diare, stomatitis, plamarplantar erythrodysesthesia, leukopenia, peningkatan bilirubin, sistem saraf tepi, gastrointestinal, insomnia, alergi, udem, dan demam. efek samping yang timbul bergantung pada regimen terapi yang diberikan (Sari *et al.*, 2019). Selain pengobatan dengan kemoterapi adjuvan atau obat berbasis bahan kimia, alternatif lain yang dapat digunakan yaitu menggunakan terapi enzim. Enzim tripsin inhibitor diketahui memiliki beberapa efek biologis sebagai antimikroba, antikanker, dan biomarker. Salah satu aktivitas antikankernya yaitu terhadap kanker kolorektal, yang dimana telah dilakukan uji secara *in vivo* menggunakan mencit dan terbukti dapat menghambat pertumbuhan sel kanker kolorektal (Li *et al.*, 2014)

Tripsin inhibitor (TI) merupakan inhibitor yang dikelompokkan dalam serin protease inhibitor. Tripsin inhibitor diketahui mampu menghambat aktivitas dari enzim tripsin. Pada pasien kanker kolorektal diketahui bahwa kadar enzim tripsin lebih besar dari yang normal. Enzim tripsin diketahui berperan dalam karsinogenesis, proliferasi sel, invasi dan metastasis pada kanker kolorektal (Gupta & Gupta, 2020 ; Janssen & Baak, 2006). Kanker kolorektal memerlukan tripsin inhibitor untuk menghambat enzim tripsin, dengan begitu enzim tripsin tidak dapat mendegradasi protein sehingga menghambat aktivitas molekul sinyal tripsin dan mediasi *matrix metalloproteinases* (MMPs). Karena aktivitas MMPs terhambat maka proses proliferasi sel, invasi dan metastasi kanker kolorektal menjadi terhambat (Gupta & Gupta, 2020 ; Yamamoto *et al.*, 2003).

Enzim tripsin inhibitor di alam dapat ditemukan pada tanaman, hewan dan mikroba. Tanaman merupakan sumber utama penghasil enzim tripsin inhibitor. Beberapa tanaman penghasil enzim tripsin inhibitor yang diketahui memiliki aktivitas sebagai antikanker adalah kacang hijau (Klomklao *et al.*, 2011); kacang miju–miju atau *Lentil (Lens culinnaris)* (Caccialupi *et al.*, 2010); kacang kapri atau pea (*Pisum sativum L*) (Sebastian *et al.*, 2020 ; Clemente *et al.*, 2005); kacang kedelai hitam (*Glycine soja L*) (Fang *et al.*, 2010); kacang kedelai (Olias *et al.*, 2019); kentang (*Solanum tuberosum*) (Cisneros *et al.*, 2020); Yunnan bean (*Gymnocladus Chinensis*) (Zhu *et al.*, 2011); kacang pinto kecil (*Phaseolus vulgaris L*) (Chan *et al.*, 2014). aktivitas antikoagulan dari biji *Geoffroea decorticans* (Cotabarren *et al.*, 2020). aktivitas antimikroba dari *Solanum tuberosum* (Cisneros *et al.*, 2020). TI yang dihasil dari mikroba diketahui memiliki aktivitas sebagai kanker, Seperti pada bakteri *Oceanimonas sp. BPMS22* (Harish *et al.*, 2020), *Streptomyces trypsin* (Wang *et al.*, 2020)

Terkait dengan kemungkinan potensi tripsin inhibitor dalam kacang hijau pada terapi kanker, maka dilakukan pengembangan sebuah penelitian rekonstruksi TI untuk menargetkan pada permukaan sel GRP78 (Li *et al.*, 2014). Protein yang diatur glukosa dari massa molekul 78 (GRP78) terdapat pada membran sel - sel kanker. GRP78 dapat menginduksi apoptosis kanker kolorektal. GRP78 juga terlibat dalam proliferasi sel tumor, resistensi, metastasis dan angiogenesis (Lee *et al.*, 2015). Tujuan dari artikel ilmiah ini untuk menelaah berbagai penelitian TI yang mempunyai aktivitas baik dalam target terapi untuk penderita KKR. Review

ini akan membahas organisme penghasil enzim TI, aktivitasnya serta metode isolasi dan purifikasi enzim. Sehingga tujuan dari artikel ilmiah ini untuk menelaah berbagai penelitian TI yang mempunyai aktivitas baik dalam target terapi untuk penderita KKR yang dapat dijadikan sebagai kandidat obat.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penulisan ini untuk mendapatkan informasi berdasarkan hasil studi literatur terkait enzim tripsin inhibitor dari beberapa organisme yang berpotensi untuk pengobatan terapi kanker kolorektal.

1.3 Manfaat Penelitian

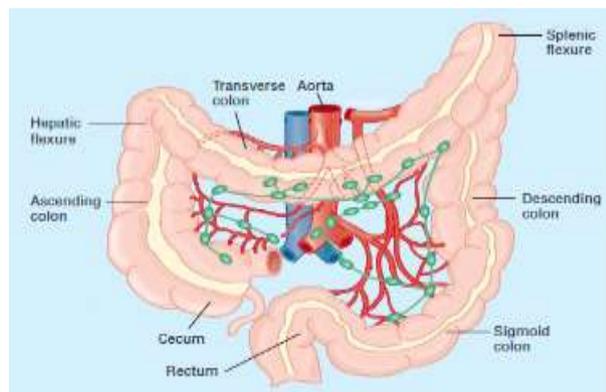
Dapat dijadikan sebagai literatur untuk informasi potensi enzim tripsin inhibitor dalam terapi pengobatan khususnya pada kanker kolorektal

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kanker Kolorektal

2.1.1 Pengertian Kanker Kolorektal

Kanker kolorektal terjadi karena adanya pertumbuhan abnormal pada usus besar atau rektum (Dewi & Widya Suksmarini, 2018). Kanker ini merupakan tumor ganas dengan prognosis buruk. Secara histopatologik adenokarsinoma usus besar terdiri atas epitel mukosa dan memiliki kemampuan mensekresikan mukus (Padang & Rotty, 2020). Sel kanker kolorektal dapat merusak jaringan disekitarnya dan melakukan metastasis ke jaringan atau organ lainnya (Wahyuni Syukuriyah Tatuhey & Helfi Nikijuluw, 2014). Usus besar merupakan organ yang memiliki fungsi menyerap nutrisi dan cairan yang dibutuhkan tubuh. Secara makroskopik usus besar ada enam bagian, antara lain sekum, *ascending*, *Transverse*, *descending*, sigmoid serta rektum (Michael *et al.*, 2013)



Gambar 1. Anatomi kolon dan rektal (Michael *et al.*, 2013)

Usus besar berada di ujung proksimal usus besar dan panjangnya sekitar 1500 cm, panjang rektum sekitar 13 cm, dan bagian atas tulang ekor sekitar 2-3 cm. Beberapa penyakit yang terjadi pada usus besar dan rektum antara lain: Polip usus besar yaitu adanya benjolan kecil yang mulai tumbuh pada bagian dalam dilapisan kolon. Kolitis ulseratif disebut juga penyakit radang usus. Penyakit crohn merupakan plak atau peradangan dengan ulserasi (Padang & Rotty, 2020)

2.1.2 Etiologi Kanker kolorektal

Kanker kolorektal penyebabnya masih belum diketahui, tetapi faktor resiko berikut ini seperti polip kolorektal, kelainan genetik, inflamasi usus yang rentan membuat seseorang terkena kanker kolorektal (Sayuti & Nouva, 2019), diabetes mellitus, infeksi *Helicobacter pylori* dan *Fusobacterium spp*, merokok, obesitas meningkatkan resiko kanker kolorektal sebesar 19% (Baena & Salinas, 2015), mengkonsumsi daging merah dan daging olahan (Kemenkes RI, 2016). Gaya hidup dan pola diet yang buruk (Rahmadania *et al.*, 2016), seperti konsumsi alkohol dalam jumlah sedang sebesar 25-30 g/hari (Baena & Salinas, 2015), lemak berlebihan, asupan serat sedikit, dan tinggi protein, berhubungan dengan peningkatan resiko karsinoma kolorektal (Gunasekaran *et al.*, 2019).

2.1.3 Mekanisme Kanker Kolorektal

Kanker kolorektal pada umumnya diawali dengan polip yang bersifat jinak atau non-kanker yang berkembang menjadi pertumbuhan abnormal (kanker). Perkembangan kanker kolorektal didalam tubuh terbagi menjadi beberapa stadium.

Berikut adalah beberapa stadium kanker kolorektal :

a. Stadium 0

Stadium ini disebut prakanker, karena sel kanker belum tumbuh dan menyebar.

b. Stadium I

Stadium ini, tumor mulai tumbuh di lapisan bagian dalam kolon atau rektum, tetapi tidak menembus dinding.

c. Stadium II

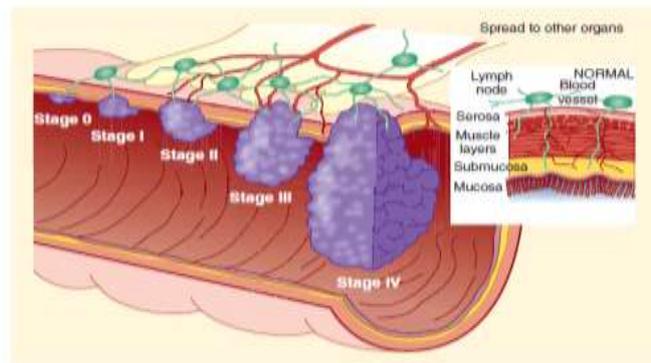
Pada tahap ini, kanker mulai menyebar jaringan sekitar, tetapi belum menyebar ke kelenjar getah bening.

d. Stadium III

Pada kondisi ini, kanker sudah mulai tersebar ke kelenjar getah bening di dekatnya tetapi belum menyebar ke organ lainnya.

e. Stadium IV

pada stadium ini terjadinya metastasis sel kanker. Berikut ini gambar stadium kanker kolorektal dari 0 – IV.



Gambar 2. Stadium kanker kolorektal dari stage 0 – IV (Michael et al., 2013).

2.1.4 Pengobatan Kanker Kolorektal

Kanker kolorektal dapat dicegah dengan memperbaiki pola makan sehat seperti memperbanyak konsumsi ikan, melakukan aktivitas fisik dengan teratur dapat mengurangi resiko ini 24% (Baena & Salinas, 2015), asupan makan yang mengandung serat tinggi, diketahui kaya polifenol yang memiliki fungsi mengubah proses molekuler yang dapat memicu karsinogenesis kolorektal (Pericleous *et al.*, 2013). Diagnosis kanker kolorektal dapat dilakukan dengan pemeriksaan fisik atau pemeriksaan penunjang. Pemeriksaan fisik dilakukan jika terjadi pendarahan per-anum disertai peningkatan frekuensi defakasi / diare. Pemeriksaan penunjang terkait dengan pemeriksaan darah, radiologi, CT scan abdomen, kolonoskopi (Johnson *et al.*, 2013).

Terapi kanker kolorektal dapat dilakukan dengan terapi endoskopi, perawatan bedah, radioterapi, terapi sistemik. Perawatan endoskopi adalah metode reseksi (memotong) lesi endoskopi di usus besar dan mengumpulkan spesimen yang direseksi. Dalam menentukan perawatan endoskopi dan metode pengobatan, sangat penting mengetahui informasi tentang ukuran, prediksi kedalaman invasi, dan morfologi tumor. Perawatan bedah, pada terapi ini luasnya diseksi kelenjar getah bening yang akan dilakukan selama operasi kanker kolorektal ditentukan berdasarkan temuan klinis pra-operasi dan sejauh mana metastasis kelenjar getah bening dan kedalaman invasi tumor yang diamati secara intraoperatif. Radioterapi merupakan perawatan secara lokal

kanker rektal stadium lanjut, dilakukan untuk terapi tambahan setelah pembedahan dalam mencegah kekambuhan atau sebelum pembedahan untuk mengurangi volume tumor, sebagai perawatan untuk meredakan gejala, memperpanjang kelangsungan hidup pasien kanker kolorektal yang tidak dapat dioperasi yang memiliki lesi simptomatik. Terapi sistemik terdiri dari kemoterapi adjuvan untuk mencegah kekambuhan paska operasi dan terapi sistemik untuk obati kanker kolorektal yang tidak dapat dioperasi. Untuk terapi operasi dapat dilakukan pada pasien kanker kolorektal stage I – III. Dalam pendekatan kuratif dengan terapi pembedahan kanker kolorektal stadium I – III harus menjalani reseksi tumor secara menyeluruh dengan mengangkat kelenjar getah bening regional. Regimen pengobatan adjuvant untuk kanker usus besar stadium 2 dan 3 dapat dilihat pada gambar 3, sedangkan untuk pengobatan kanker usus stadium IV dapat dilihat pada gambar 4.

Table 91-5 Treatment Regimens for Adjuvant Colon Cancer	
Stage II ^a	Stage III
High Risk <ul style="list-style-type: none"> • Capecitabine or 5-FU plus leucovorin • FOLFOX 	Good Performance Status <ul style="list-style-type: none"> • FOLFOX • Capecitabine or 5-FU plus leucovorin
Low Risk^b <ul style="list-style-type: none"> • Observation or clinical trial • Capecitabine or 5-FU plus leucovorin 	Poor Performance Status <ul style="list-style-type: none"> • Capecitabine

Gambar 3. Regimen terapi kanker kolorektal stage II dan III (Michael et al., 2013).

Table 91-6 Treatment Options for Metastatic Colon Cancer ^a	
First-Line Therapy	Second-Line Therapy
Good Performance Status <ul style="list-style-type: none"> • FOLFOX with or without bevacizumab • FOLFIRI with or without bevacizumab • 5-FU + leucovorin with bevacizumab 	If First-Line Irinotecan <ul style="list-style-type: none"> • FOLFOX with or without bevacizumab^b • Irinotecan with or without cetuximab^c • Capecitabine or 5-FU plus leucovorin
Poor Performance Status <ul style="list-style-type: none"> • Capecitabine or 5-FU plus leucovorin with or without bevacizumab 	If First-Line Oxaliplatin <ul style="list-style-type: none"> • FOLFIRI with or without bevacizumab^b • Irinotecan with or without cetuximab^c

Gambar 4. Terapi metastatik kanker usus besar (Michael et al., 2013).

2.2 Enzim Tripsin Inhibitor

2.2.1 Pengertian Enzim Tripsin inhibitor

Enzim merupakan protein katalitik yang memiliki fungsi sebagai katalisator yang dapat mempercepat laju reaksi kimia tanpa terlibat dalam reaksi tersebut, karena enzim memiliki ciri khas tidak diubah oleh reaksi katalisnya, dan meskipun dapat mempercepat reaksi tetapi tidak mengubah kesetimbangan kimianya (Susanti & Febriana, 2017). Di alam enzim dapat ditemukan pada tanaman, hewan, dan mikroorganisme (Sulistiyowati & E. Salirawati, 2016). Faktor – faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim diantaranya, pH, suhu, konsentrasi substrat dan inhibitor (penghambat). Hal itu dapat mengganggu stabilitas enzim selama penyimpanan, penggunaan, senyawa asam atau basa, serta pengaruh temperatur dan pH ekstrim (Susanti & Febriana, 2017).

Enzim tripsin merupakan serin protease golongan enzim protease. Enzim ini terdiri dari tiga gen tripsinogen yaitu tripsinogen I , II dan tripsinogen IV (Yamashita *et al.*, 2003), memiliki triad katalitik serin , histidin dan aspartat serta memiliki aktivitas *zymogen* untuk kimotripsin enzim lainnya. Tripsin memainkan peran utama dalam proses pencernaan (Poonsin *et al.*, 2020). Tripsin diketahui terlibat dalam karsinogenesis kolorektal dan mempromosikan proliferasi, invasi dan metastasis (Gupta & Gupta, 2020 ; Janssen & Baak, 2006). Mekanisme tripsin menginduksi invasi dan metastasis dapat terjadi melalui beberapa mekanisme. Tripsin dapat langsung mendegradasi protein ekstraseluler dengan sendirinya, dengan menyerang kolagen tipe 1 dari membran basal. Tripsin efeknya dimediasi secara tidak langsung melalui aktivitas *matrix metalloproteinases* (MMPs). Aktivitas molekul sinyal tripsin yaitu *proteinase-activated receptor 2* (PAR-2). Pada tubuh manusia enzim tripsin diproduksi oleh pankreas dalam bentuk tidak aktif (tripsinogen), hal ini karena efek dari kemampuan tripsin yang menghidrolis protein menjadi ukuran yang lebih kecil, sehingga jika enzim tripsin langsung aktif akibatnya akan menghancurkan sel – sel pankreas, karena pankreas tersusun atas protein. Tripsinogen dikeluarkan melalui pankreas ke dalam duodenum kemudian dipecah menjadi tripsin aktif oleh enteropeptidase.

Inhibitor yaitu senyawa yang dapat memperlambat laju reaksi enzimatik, dan sifat kinetik inhibitor dapat dibagi menjadi tiga yaitu inhibitor kompetitif

ireversibel, nonkompetitif, dan ireversibel. Aktivator adalah ion, unsur, atau senyawa, yang dapat meningkatkan aktivitas enzim. Penambahan ion Ca^{2+} , Co^{2+} , Cd^{2+} , dan Mn^{2+} diketahui dapat meningkatkan aktivitas tripsin maksimal sebesar 25%. Tripsin inhibitor merupakan suatu senyawa yang dapat menghambat aktivitas enzim tripsin. Ion Cu^{2+} , Hg^{2+} , dan Ag^{2+} diketahui bersifat sebagai inhibitor (Sulistyowati *et al.*, 2016).

Tripsin inhibitor merupakan senyawa yang jika ditambahkan dalam campuran enzim tripsin dan substrat akan memiliki fungsi untuk mengikat enzim dan menurunkan kecepatan substrat (Liu, 1999). Senyawa ini diketahui ada jenis kunitz tripsin inhibitor (Fang *et al.*, 2010) dan bowman-birk inhibitors (de Paula Carli *et al.*, 2012).

2.2.2 Fungsi / Sifat Fungsional

Enzim tripsin inhibitor telah banyak dijumpai di berbagai tumbuhan. Pada tumbuhan enzim ini berfungsi untuk cadangan protein yang larut air, untuk pengendali aktivitas *proteinase endogenous* (Bayu *et al.*, 2007), dan untuk membantu pertahanan terhadap hama dan mikroba (Jofuku & Goldberg, 1989). Dalam bidang medis tripsin inhibitor digunakan sebagai biomarker, antimikroba, antiinflamasi dan antikanker.

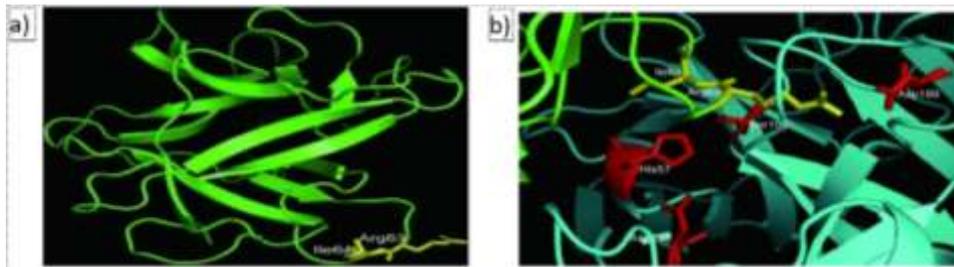
2.2.3 Mekanisme Kerja Enzim

Mekanisme aksi tripsin inhibitor dalam pertahanan terhadap serangga. Tripsin inhibitor untuk pertahanan terhadap serangga bergantung pada kandungannya di dalam tanaman (j. E. Baker, 1984). Seekor serangga ketika mencerna makanan/tumbuhan yang mengandung enzim tripsin inhibitor, maka enzim ini akan memblokir protease yang tersedia di bagian tengah usus, oleh karena itu serangga tidak bisa menghidrolisis protein. Sehingga serangga menjadi kekurangan nutrisi dan mati. Fenomena ini mengundang beberapa para peneliti untuk melakukan percobaan terkait pengendalian hama dengan tripsin inhibitor.

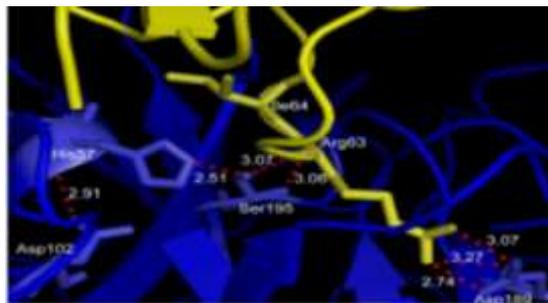
Diketahui dipenelitian sebelumnya dilakukan percobaan melibatkan rekayasa genetika yang dimana tanaman tembakau ditransformasi dengan gen penghambat tripsin kacang tunggak. Hasil menunjukkan daun tembakau menjadi tahan terhadap larva *Heliothis zea* (Smilanick *et al.*, 1992). Pada

tanaman gandum diketahui tripsin inhibitor menghambat invasi serangga hama maupun patogen (Herlina *et al.*, 2013).

Mekanisme kerja Tripsin inhibitor yang berhasil diisolasi dari kacang kedelai yang disebut dengan istilah SKTI (soybean kunitz tripsin inhibitor), secara umum diketahui bahwa rantai samping residu Arg63 di SKTI sebagai muatan positif, yang dapat membentuk interaksi elektrostatis yang kuat dengan muatan negative dari rantai samping Asp189 di enzim tripsin, secara signifikan berkontribusi pada pengikat inhibitor ke pusat aktif tripsin. Selain itu SKTI membentuk kompleks biner dengan tripsin dirasio 1:1 (mol:mol), ini dapat dilihat pada gambar 2.2. Diketahui bahwa pada interaksi Arg63 dari SKTI dan domain aktin tripsin, termasuk tiga situs aktif katalitik (His57, Asp102, dan Ser195) dan satu situs pengikat Asp189 telah berhasil memblokir pusat aktif tripsin dan secara efektif mencegah pengikat substrat ke tripsin (Xu *et al.*, 2020). Untuk struktur enzimnya dapat di lihat di gambar 5.



Gambar 5. struktur SKTI ditampilkan dalam model tiga dimensi. a). Enzim SKTI ditunjukkan dengan warna hijau, situs aktif warna kuning. b). Interaksi SKTI dengan enzim tripsin (merah). (Xu *et al.*, 2020)



Gambar 6. Jarak ikatan hydrogen yang terbentuk oleh residu di daerah aktif. Backbone inhibitor dan protease ditampilkan dalam bentuk kartun. sticks menunjukkan residu yang terlibat interaksi penghambat enzim.

2.2.4 Organisme Penghasil Enzim

Selain banyak dijumpai di tumbuh – tumbuhan dan hewan, enzim tripsin inhibitor juga dapat diisolasi dari mikroorganisme. organisme penghasil enzim dapat di lihat pada tabel 1.

Tabel 1. Organisme penghasil enzim dan aktivitas tripsin inhibitor

No	Organisme	Nama inhibitor	Aktivitas	Referansi
1	<i>Glycine max</i> L. Seeds	Kunitz tripsin inhibitor	Antitumor	(Xu <i>et al.</i> , 2020)
		Bowman–Birk isoinhibitors	Kanker kolorektal	(Oliás <i>et al.</i> , 2019)
2	Macrolepiota procera, Armillaria mellea and Amanita phalloides	Tripsin inhibitor	-	(Lukanc <i>et al.</i> , 2017)
3	<i>Gymnocladus Chinensis</i> (Yunnan Bean) Seeds	Kunitz tripsin inhibitor	sel kanker L1210 dan sel MBL2	(Zhu <i>et al.</i> , 2011)
4	<i>mung bean (Vigna radiata</i> (L.) R. Wilczek)	Tripsin inhibitor	Kanker kolorektal	(Klomklo <i>et al.</i> , 2011)
5	Arabidopsis plants	Bowman-Birk Inhibitor	Antioxidants glutathione-s-transferase (GST)	(Malefo <i>et al.</i> , 2020)
6	<i>Solanum tuberosum</i>	Tripsin inhibitor	Antimikroba	(Cisneros <i>et al.</i> , 2020)
7	<i>Geoffroea decorticans</i> seeds	Tripsin inhibitor	Antikoagulan	(Cotabarren <i>et al.</i> , 2020)
8	<i>Pisum sativum</i> L	Bowman-Birk Inhibitor	Kanker kolorektal	(Clemente <i>et al.</i> , 2012)
9	<i>Lentil</i>	Bowman-Birk Inhibitor	Kanker kolorektal	(Caccialupi <i>et al.</i> , 2010)
10	Pinto beans	Tripsin inhibitor	sel kanker payudara MCF7 dan hepatoma HepG2	(Chan <i>et al.</i> , 2014)
11	<i>Glycine soja</i> (L) merri	Kunitz tripsin	Antitumor	(Fang <i>et al.</i> , 2010)

		inhibitor		
12	Cassia obtusifolia	Tripsin inhibitor	-	(J. Zhou et al., 2020)
13	Catanduva (Piptadenia moniliformis) seeds	Kunitz tripsin inhibitor	Bioinsekticidal	(Cruz et al., 2013)
14	<i>Inga laurina</i> (SW.) Willd	Tripsin inhibitor	Antimikroba	(Alias & Simarani, 2016)
15	<i>Vigna unguiculata</i> seeds	Bowman-Birk protease inhibitor	Antikarsinogenik	(Alias & Simarani, 2016)
16	Faba Bean (Vicia faba cv. Giza 843)	Tripsin inhibitor	Antiproliferatif hepatoma HepG2	(Fang et al., 2011)
17	Peria(<i>Momordica charanti</i>)	Tripsin inhibitor	Kanker kolorektal	(Dia & Krishnan, 2016)
18	Sardinella longiceps	Tripsin inhibitor	-	(Ajay S Khandagale et al., 2017)
19	duck albumen	Tripsin inhibitor	food grade inhibitor	(Quan & Benjakul, 2019)
20	Spider (Araneus ventricosus)	Kunitz tripsin inhibitor	Antifibrinolitik	(Wan et al., 2013)
21	<i>streptomyces trypsin</i>	Tripsin inhibitor	-	(Wang et al., 2020)
22	<i>Oceanimonas sp.</i> BPMS22	Tripsin inhibitor	Antikoagulan	(Harish et al., 2020)
23	<i>Lactobacillus plantarum</i> FNCC 0270	Trypsin-like Protease	-	(Trismilah et al., 2015)
24	<i>Streptomyces griseu</i>	Tripsin	-	(Zhang et al., 2016)
25	<i>Gloeobacter violaceus</i>	serine protease inhibitor	Heparin	(Oliveira et al., 2016)
26	<i>Streptomyces misionensis</i> UMS1	Tripsin inhibitor	Antibakteri	(Alias & Simarani, 2016)

2.2.5 Aplikasi dalam Pengobatan

a. Biomarker

Biomarker dapat digunakan sebagai penanda diagnosis atau peringatan dini untuk efek biologis xenobiotik (Raya *et al.*, 2014), serta memainkan peran penting dalam meningkatkan proses pengembangan obat (Strimbu & Tavel, 2010). Dalam beberapa penelitian, penghambat rantai berat H3 interalpha tripsin (ITIH3) dan penghambat rantai berat H interalphatrypsin (ITIH) telah digunakan sebagai biomarker untuk kanker kolorektal, kombinasi ITIH3 dan ITIH4 dengan TIMP-1 (metalloproteinase-1) secara signifikan meningkatkan akurasi diagnostic (NRI=17.12%, p=0.002) (Jiang *et al.*, 2019). Tumor terkait tripsin inhibitor (TATI) merupakan peptide penanda untuk beberapa tumor. Dengan perkembangan teknologi (TATI) dapat digunakan untuk identifikasi pasien dengan peningkatan resiko penyakit agresif (Itkonen & Stenman, 2014). TATI juga berfungsi sebagai reaktan fase akut. serum tripsin 2 terkait tumor (TAT-2) yang tinggi dapat digunakan sebagai prognostic biomarker untuk kanker lambung. pada kanker lambung prognosis buruk ditunjukkan dengan TATI serum tinggi. Tingkat kelangsungan hidup pasien dengan peningkatan kadar serum TAT-2 22.9% (95% degan interval (CI) 11.7-34.1) dibandingkan 52.2% (95% CI 44.6-59.8; p<001) diperkirakan selama lima tahun, peninkatan TATI serum yaitu 30.6% (95% CI 20.4-40.8) dibandingkan dengan 52.9% (95%CI 44.7-61.1 ; p < 001) (Kasurinen *et al.*, 2020). Ekspresi berlebihan dari TATI memprediksi hasil yang tidak baik untuk banyak kanker (Tornberg *et al.*, 2020). Biomarker terdapat beberapa klasifikasi sesuai dengan penggunaannya.

Tabel 2. Aplikasi biomarker berdasarkan fungsinya (Califf., 2018)

No	Biomarker	Fungsi
1	Diagnostik	Untuk mendeteksi atau mengkonfirmasi keberadaan penyakit atau mengidentifikasi sub tipe penyakit.
2	Monitoring	Untuk mengukur efek farmakodinamik, mendeteksi bukti respon awal terapeutik, mendeteksi

		komplikasi penyakit.
3	Farmakodinamik/ respon	Untuk mengetahui respon terhadap paparan produk medis atau agen lingkungan.
4	Predictive	Untuk memprediksi efek merugikan dari paparan produk medis atau agen lingkungan
5	Prognostik	Untuk mengidentifikasi kemungkinan kejadian klinis, kekambuhan penyakit atau perkembangan penyakit.

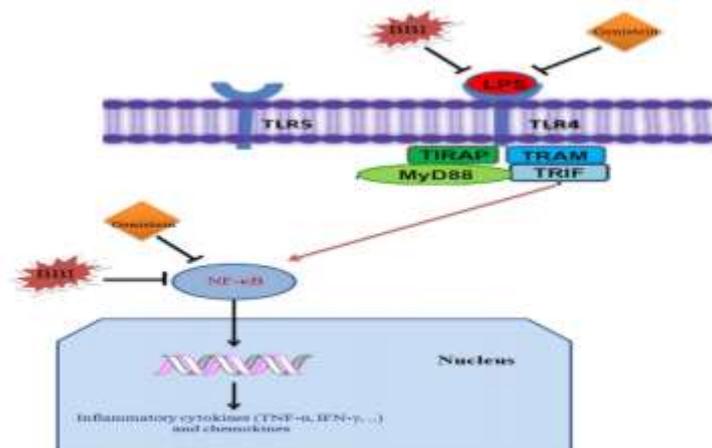
b. Antimikroba

Agen antimikroba yaitu suatu senyawa yang memiliki kemampuan pertumbuhan bakteri atau jamur yang disebut bakteristatik dan bakteristatik, dan bakteri atau jamur pembunuh disebut bakteristatik atau bakteristatik (Zheng *et al.*, 2013). Berdasarkan beberapa penelitian enzim tripsin inhibitor diketahui memiliki aktivitas sebagai antimikroba. Tripsin inhibitor yang diperoleh dari *Solanum tuberosum* diketahui memiliki aktivitas terhadap mikroba patogen, termasuk *Candida albicans*, *Rhizoctonia solani*, dan *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis* (Cisneros *et al.*, 2020). Aktivitas antibakteri juga telah ditunjukkan pada BBI yang diisolasi dari *Luetzelburgia auriculata* (LzaBBI) dan aktivitas *in vitro* terhadap *Staphylococcus aureus* Gram-positif. Aktivitas LzaBBI dalam membunuh bakteri yaitu dengan mengganggu membran bakteri integritas dan meningkatkan ROS intraseluler (Martins *et al.*, 2018). BBI dari *Dolichos biflorus* menunjukkan aktivitas anti jamur terhadap *Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum* dan *Aspergillus niger* dengan konsentrasi hambat minimum 0,4, 0,6 dan 1,2 $\mu\text{g ml}^{-1}$ (Kuhar *et al.*, 2013). TI yang diperoleh dari *Albizia amara Boiv* aktivitas antimikroba terhadap “*Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Alternaria alternata*, *Alternaria tenuissima* dan *Candida albicans*” (Dabhade *et al.*, 2016). TI dari *Abelmoschus moschatus .L* memiliki aktivitas antibakteri yang kuat terhadap “*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas syringae* dan

Streptococcus pyogenes dan menghambat pertumbuhan spesies jamur *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Asperigillus flavus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida glabrata* dan *Asperigellus niger*“ (Abelmoschus *et al.*, 2014)

c. Antiinflamasi

Kunitz tripsin inhibitor selain menjadi protease inhibitor, KTI juga dapat mencegah peradangan dan jaringan cedera dan kemudian mempromosikan remodeling jaringan (Shigetomi *et al.*, 2010). KTI dari anemon *heteractis crispa* dapat memblokir saluran kalium. Dan pada dosis 0.1-1 mg/kg, selama 24 jam volume edema dapat diturunkan. Berdasarkan analisis ELISA dari darah hewan menunjukkan bahwa peptide tersebut mengurangi sintesis TNF- α , mediator pro-inflamasi (Gladkikh *et al.*, 2020). Kombinasi BBI yang diturunkan dari kedelai dan genistein mengurangi kadar serum TNF α dan interferon IFN γ . ekspresi TNF- α dan IFN- γ dalam splenosit secara signifikan diturunkan regurasinya bersama dengan peningkatan kelangsungan hidup inang terhadap endotoksemia mematkan yang diinduksi lipopolisakarida (LPS) (Sadeghalvad & Mostafaie, 2019).



Gambar 7. Mekanisme kerja kombinasi BBI dan genistein dalam menghambat produksi sitokin proinflamasi yang dilapisi LPS.

d. Antikanker

IBB1 kedelai diketahui memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan sel kanker usus besar (Oliás *et al.*, 2019). KTI yang diisolasi dari kacang kedelai hitam memiliki stabilitas pemanasan yang

tinggi (0-100)°C serta dapat menghambat aktivitas reverse transcriptase HIV-1 (Fang *et al.*, 2010). GBP-TI yang di ekstraksi dari kacang hijau mempunyai potensi untuk terapi KKR dengan induksi pada fase G1 dan aktivasi beberapa jalur apoptosis (Klomklao *et al.*, 2011). BBI *Lentil* juga memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan sel kanker kolorektal (Caccialupi *et al.*, 2010). Aktivitas kacang pea dalam menurunkan pertumbuhan sel HT29 tergantung pada dosis yang diberikan (Sebastian *et al.*, 2020 ; Clemente *et al.*, 2005). Kacang pinto berdasarkan hasil penelitian memiliki aktivitas penghambat tripsin terhadap sel kanker payudara MCF7 dan hepatoma HepG2 (Chan *et al.*, 2014). TI yang diisolasi dari *Gymnocladus Chinensis* memiliki Aktivitas antiproliferasi sel kanker terhadap sel L1210 dan sel MBL2 (Zhu *et al.*, 2011). Tripsin inhibitor mempunyai potensi untuk terapi KKR (Klomklao *et al.*, 2011), mempunyai aktivitas penghambat terhadap sel kanker payudara MCF7 dan hepatoma HepG2 (Chan *et al.*, 2014), Baru – baru ini ditemukan bahwa tripsin inhibitor termostabil di peroleh dari biji *Geoffroea decorticans* dan memiliki aktivitas antikoagulan (Cotabarren *et al.*, 2020). Enzim *kunitz type trypsin inhibitor* diketahui memiliki aktivitas sebagai antitumor (Fang *et al.*, 2010), menekan invasi sel kanker ovarium dengan memblokir peningkatan regulasi urokinase (Kobayashi *et al.*, 2004) . Enzim tripsin inhibitor *type Bowman-Birk Inhibitor* diketahui dapat menghambat pertumbuhan sel kanker kolorektal (Caccialupi *et al.*, 2010), menurunkan pertumbuhan sel HT29 tergantung pada dosis yang diberikan (Sebastian *et al.*, 2020 ; Clemente *et al.*, 2005).

2.2.6 Contoh Obat tripsin inhibitor

Obat yang mengandung senyawa protease inhibitor sebelumnya sudah ada dalam terapi pengobatan salah satunya yaitu lopinavir dan ritonavir, kedua obat tersebut digunakan sebagai lini kedua untuk terapi antiretroviral. Obat tripsin inhibitor termasuk obat kelas protease inhibitor, obat dengan nama dagang trasylol, pierce protease inhibitor tablet dan aprotinin (serine protease inhibitor ab146286). Aprotinin merupakan protease serin kompetitif yang membentuk kompleks stabil dan dengan memblokir situs aktif enzim.

pengikatannya bersifat reversible, dan sebagian besar kompleks aprotinin-protease terdisosiasi pada pH > 10 atau < 3,2 (<https://www.sigmaaldrich.com/life-science/metabolomics/enzyme-explorer/aprotinin-monograph.html>) .

Kelarutan dan stabilitas aprotinin sediaan injeksi, aprotinin larut bebas dalam air (> 10 mg/mL) dan dalam buffer air dengan kekuatan ionik rendah. Larutan pekat lebih stabil dibandingkan larutan encer. Stabilitas larutan juga tergantung pada pH dengan nilai 1-12 dapat ditoleransi. Jembatan disulfida Cys14-Cys38 mudah dipisahkan oleh agen pereduksi seperti 2-merkapttoethanol. Aprotinin relatif stabil terhadap denaturasi pada suhu tinggi, asam, alkali, atau degradasi proteolitik, karena struktur tersiernya yang rapih. Aprotinin dengan basis tinggi dapat menyebabkannya melekat pada tabung dialisis yang umum digunakan. Bahan asetat dan larutan garam pekat (misalnya, 0.1 M NaCl dalam buffer) ini akan membantu mengurangi sediaan melekat pada tabung. Sterilisasi dapat dilakukan dengan penyaringan melalui filter 0.2 μm (<https://www.sigmaaldrich.com/life-science/metabolomics/enzyme-explorer/aprotinin-monograph.html>)

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

- A. Waktu Penelitian : (Februari 2021 – Juni 2021)
- B. Subyek Penelitian : Enzim tripsin inhibitor dari berbagai sumber yang berguna untuk pengobatan terapi kanker
- C. Metode Pengumpulan Data :

1 Rancangan Strategi Pencarian Sumber Literatur

Penelusuran sumber literatur dilakukan terhadap beberapa jurnal ilmiah terpublikasi Nasional dan Internasiol melalui *Google Scholar*, *Google Chrome*, PubMed, Brenda, *Science Direct*, Buku dan sumber data base lainnya yang dilengkapi *digital object identifier* (DOI) pada artikel.

2 Kriteria Sumber Literatur

Pemilihan literatur berdasarkan kriteria jurnal yang dapat menjawab pertanyaan terkaitan tujuan penelitian ini. Selanjutnya, filter artikel yang diambil berdasarkan judul, abstrak, dan kata kunci. Artikel ilmiah yang terpilih disaring dengan pertimbangan melihat isi dan rentang tahun publikasi. Jurnal atau artikel ilmiah yang terpilih maksimal 10 tahun terakhir.

Tabel 3. Hasil Temuan Literatur

Data Based	Temuan Literatur	Terpilih
Google Scholar	65	64
PubMed	6	5
ScienceDirect	20	16
MDPI	8	8
JUMLAH	99	93