



In Silico Design Of B-Cell Epitope Based Peptide Vaccine For Epstein-Barr Virus

Berlianti Musdah Safitri, Laura Nur Rahmwati, Risma Aulia Hernanda, Nadya Faricha Pramayudha, Nana Putri Sumadi, Firasti Sumadi

Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Muhammadiyah Malang

*Corresponding Author: firasti@umm.ac.id

ABSTRACT

Nasopharyngeal cancer (Nasopharyngeal carcinoma/NPC), is a malignant tumor originating from the nasopharyngeal mucosal epithelium with varying degrees of cell differentiation. Most commonly found in Asia and strongly associated with Epstein Barr virus (EBV) infection. The purpose of writing this journal is to review the Epstein Barr virus (EBV) in nasopharyngeal cancer (Nasopharyngeal carcinoma/NPC). Epstein-Barr virus was investigated by means of immunohistochemical examination and in situ hybridization which has been studied in ten cases of nasopharyngeal cancer, nine of which found EBV. After obtaining the epitope candidates, these proteins can be developed into vaccines through certain delivery systems such as lipid nanoparticles. Based on the steps that have been passed and the results obtained, it can be concluded that the epitope candidates that have been obtained can be used for vaccine use.

Keywords: B-Cell Epitop Based peptide vaccine, Epstein Barr Virus, In Silico, Nasopharyngeal cancer

Abstrak

Kanker nasofaring (Nasopharyngeal carcinoma/NPC), merupakan tumor ganas yang berasal dari epitel mukosa nasofaring dengan derajat diferensiasi sel yang bervariasi. Paling sering ditemukan di Asia dan sangat terkait dengan infeksi virus Epstein Barr (EBV). Tujuan: Penulisan jurnal ini bertujuan untuk mengkaji virus Epstein Barr (EBV) pada kanker nasofaring (Nasopharyngeal carcinoma/NPC). Kesimpulan: Virus Epstein-Barr telah diteliti melalui pemeriksaan imunohistokimia dan hibridisasi in situ yang telah dipelajari pada sepuluh kasus kanker nasofaring, sembilan diantaranya ditemukan EBV. Setelah mendapatkan kandidat epitop, protein tersebut dapat dikembangkan menjadi vaksin melalui sistem pengiriman seperti nanopartikel lipid. Berdasarkan tahapan yang telah dilalui dan hasil yang didapatkan, dapat disimpulkan bahwa kandidat epitop yang telah didapatkan dapat digunakan untuk penggunaan vaksin.

Kata Kunci: Epstein Barr Virus, In Silico, Kanker Nasofaring, Mega-X, vaksin peptida berbasis epitope sel B.

PENDAHULUAN

KNF merupakan salah satu keganasan yang sering ditemukan di Asia dengan insidensi kasus sebesar 109.221 pasien pada tahun 2018. Kanker nasofaring di Indonesia merupakan keganasan terbanyak ke-4 setelah kanker payudara, kanker serviks, dan kanker kulit. Sedangkan di Indonesia, terdapat 348.809 kasus baru dan 207.210 kematian yang disebabkan oleh kanker nasofaring [1].

Kanker nasofaring memiliki beberapa faktor resiko diantaranya riwayat merokok, jenis kelamin, faktor makanan, faktor lingkungan, konsumsi alkohol, dan faktor genetik. Selain itu, kanker nasofaring juga dapat disebabkan oleh infeksi virus, yaitu virus Epstein-Barr [2].

Di Indonesia, insidensi pada tahun 2018 adalah sebesar 17.992 kasus dengan urutan 6 terbanyak diantara keganasan lainnya. Jumlah insidensi KNF di Indonesia pada tahun 2018

didominasi oleh pria dibanding wanita dengan jumlah 13.966 kasus dan menduduki urutan keempat insidensi kanker pada pria. Puncak insidensi KNF berada pada usia dewasa muda dan pada pasien usia 55 – 59 tahun. Seiring kemajuan biologi molekuler, saat ini diketahui bahwa EBV terkait dengan kejadian KNF, terutama pada tipe tidak berkeratin (tipe II dan III), dengan mengabaikan etnik maupun geografis. Deteksi dari EBV DNA tumor dapat menunjukkan ekspansi dari infeksi EBV sebelumnya yang mengakibatkan transformasi pada sel.

Di Indonesia, di antara kanker tubuh lain, angka kematian kelima tertinggi ditempati oleh NPC yang menempati peringkat ketiga pada pria, sedangkan pada wanita menempati peringkat tertinggi kelima. Rata-rata prevalensi NPC di Indonesia adalah 6,2/100.000 dengan 13.000 kasus NPC baru setiap tahun, namun demikian data NPC di Indonesia sedikit sekali. Pendapat umum mengakui bahwa NPC berasal dari sel epitel gepeng yang berasal dari mukosa saluran pernapasan dan stroma sub mukosa yang mengandung jaringan limfoid serta kelenjar. Klasifikasi NPC berdasarkan pada topografi dan morfologi sel dominan yang dilihat berdasarkan tingkat diferensiasi dan keratinisasi sel, terbagi dalam tipe berdiferensiasi berkeratin, berdiferensiasi tak berkeratin dan tipe undifferentiated tak berkeratin.

Faktor yang berperan dalam patogenesis NPC termasuk virus Epstein Bar, kerentanan genetik dan faktor risiko dari lingkungan. Beberapa faktor lingkungan yang diduga berkaitan dengan NPC adalah diet, paparan bahan kimia di tempat pekerjaan dan tembakau. Banyak penelitian tentang bagaimana infeksi Epstein-Barr virus (EBV) dan faktor risiko lainnya menyebabkan sel nasofaring menjadi kanker. Para peneliti berharap bahwa penelitian pada akhirnya akan dapat berhasil mendapatkan suatu vaksin untuk mencegah terjadinya NPC dengan menghindari terjadinya infeksi EBV. Penemuan terakhir tentang EBV dan interaksinya terhadap sel nasofaring serta reaksi sistem imun terhadap EBV telah berhasil menemukan suatu tes darah untuk mendapatkan biomarker molekuler yang dapat membantu mendeteksi NPC stadium awal dan dapat memprediksi respon terhadap pengobatan dengan lebih baik. Tes ini sedang

diteliti di daerah belahan dunia di mana kanker ini sering dijumpai.

Penanggulangan kanker nasofaring saat ini masih menjadi suatu masalah. Letak nasofaring yang tersembunyi dan tidak ada gejala yang spesifik yang dijumpai pada penderita kanker nasofaring menyebabkan banyak kasus yang sulit dideteksi. Ada beberapa cara untuk mengobati kanker nasofaring seperti operasi atau pembedahan, radioterapi, kemoterapi, terapi hormon, dan imunoterapi. Metode pengobatan yang digunakan penelitian ini adalah kemoterapi, dimana kemoterapi itu sendiri menggunakan pemberian satu atau lebih obat yang ditunjukkan untuk menghambat, mengurangi maupun membunuh pertumbuhan sel kanker. Namun demikian, kemoterapi juga dapat menghambat pertumbuhan sel sehat yang berdampak pada kinerja dari sel tersebut.

Hubungan antara virus Epstein-Barr (VEB) dengan KNF berkaitan erat dengan proses penularan melalui saliva, yang terjadi karena kontak oral yang intim, maupun saliva yang tertinggal pada alat makan, minum, dan juga mainan, serta benda lain. Portal of entry virus Epstein-Barr (VEB) ini adalah orofaring. Virus ini akan melakukan replikasi pada elemen epitelial kelenjar parotis, faring, dan lidah, atau bisa juga pada sel limfosit B. Penularan seperti ini terjadi pada masyarakat yang kurang memperhatikan aspek kesehatan dan kebersihan, misalnya pada Masyarakat yang berpenduduk padat, sosial-ekonomi rendah, dan tinggal dengan sarana hygiene sanitasi yang tidak baik

Penyebab KNF sampai saat ini belum diketahui secara pasti, namun diduga merupakan interaksi dari multi faktor. Infeksi virus Epstein-Barr (EBV) berinteraksi dengan kerentanan genetik dan faktor lingkungan merupakan faktor etiologi utama. Infeksi oleh EBV sebagai faktor etiologi ditunjang dengan tingginya titer antibodi dan antigen EBV baik pada plasma maupun sel KNF. Pasien KNF umumnya mengalami peningkatan kadar IgA terhadap viral capsid antigen (VCA) dan early antigen (EA) EBV. Pemeriksaan IgA VCA EBV dan DNA EBV di plasma merupakan alat diagnostik yang penting pada KNF dan secara ekstensif digunakan sebagai skrining awal terhadap KNF pada populasi berisiko tinggi [3,4]. Deteksi DNA EBV pada plasma mempunyai sensitivitas dan spesifitas yang

tinggi dalam mendiagnosis KNF. Kadar DNA EBV plasma juga dapat digunakan sebagai modalitas untuk memonitor progresivitas KNF selama pengobatan [4].

Pemeriksaan DNA EBV yang lebih mudah dan singkat dalam pelaksanaannya, serta dengan harga relatif terjangkau dapat dipakai untuk memprediksi stadium dan prognosis KNF. Selain itu, kadar DNA EBV lebih objektif karena pengukurannya sudah terstandarisasi secara internasional, sehingga tidak menimbulkan expertise yang bervariasi. DNA EBV mulai terdeteksi saat infeksi primer EBV pada individu yang terkena KNF. Kadar ini menggambarkan kondisi nyata status tumor yang selama ini dikenal dengan sistem staging TNM. Epstein-Barr virus adalah human herpes virus yang dapat menyebabkan infeksi mononucleosis akut dan berhubungan dengan kanker dan penyakit autoimun. Epstein-Barr virus diteliti dengan cara pemeriksaan imunohistokimia dan hibridisasi in situ dimana telah diteliti dalam sepuluh kasus kanker nasofaring sembilan diantaranya ditemukan adanya EBV.

METODE PENELITIAN

Epstein-Barr Virus Sequence Collection

Menggunakan database urutan asam amino protein EBV dari situs web NCBI.

Analisis Pohon Filogenetik dan Kawasan Konservasi dengan Aplikasi Mega X

Urutan yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan Aplikasi Mega X untuk menemukan Pohon Filogenetik (No. Replikasi Bootstrap = 1000). Nilai bootstrap 100 hingga 1000 kali replikasi digunakan untuk memperkirakan tingkat kepercayaan suatu pohon filogenetik.

Seluruh sekuen DNA yang telah dikoleksi dari NCBI diujarkan. Penjajaran sekuen DNA dilakukan dengan menggunakan CLUSTALW dalam piranti lunak MEGA X. Hal ini bertujuan untuk mengetahui tingkat homologi dan identifikasi sekuen yang berpotensi sebagai barcode. Sekuen yang berpotensi sebagai barcode adalah sekuen yang berbeda dan khas dibandingkan yang lain [5].

Pemetaan epitope dengan situs web IEDB

Analisis Epitope menggunakan website IEDB (<http://tools.iedb.org/bcell/>) bertujuan untuk menemukan kandidat epitop yang akan digunakan sebagai kandidat vaksin. Beberapa cara dapat digunakan sehingga dapat disesuaikan dengan kebutuhan. Analisis Website IEDB dengan Metode Bepipred Metode bepiped merupakan analisis yang digunakan untuk mencari kandidat epitop yang menargetkan sel B linier. Bepiped menggunakan threshold 0.350 yang merupakan default threshold dari IEDB. Metode ini telah banyak digunakan dalam penelitian dengan menggunakan Hidden Markov Model sebagai algoritma (*Komput@si*, n.d.).

Antigenicity Analysis Using Vaxijen 2.0

VaxiJen 2.0 adalah situs web yang andal dan konsisten untuk prediksi antigen yang tidak memerlukan penyelarasan protein dalam proses kerjanya, situs web ini mengenali antigen berdasarkan sifat kimia utama dari urutan asam amino melalui skala Z Wold, yang mengubah string turunan menjadi vektor seragam dengan auto cross-kovarians (ACC) untuk menggambarkan hidrofobisitas asam amino, ukuran molekulnya, dan polaritas nya. Pengujian ini akan menghasilkan data berupa kata “probable antigen” atau “probable non-antigen” disertai dengan skor antigenisitas yang telah dianalisis menggunakan ambang batas 0,5 dan ambang batas ini dianggap memiliki akurasi paling tinggi [6].

Analisis Kesamaan Protein Epitope dengan Protein Permukaan Manusia dengan BLASTp

Analisis menggunakan BLASTp bertujuan untuk mengetahui derajat kemiripan antara protein antigenik dengan protein permukaan pada tubuh manusia, yang dalam hal ini adalah sel B dan sel T. Nilai yang dapat diterima agar epitop dapat digunakan adalah di bawah 70% .

HASIL PENELITIAN

Analisis Urutan Menggunakan Aplikasi MEGA-X

Sequence collection didapatkan dari NCBI dan sebanyak 6 sequence protein Epstein-Barr virus yang berasal dari 4 negara yaitu: Los Angeles 1 sequence, China sebanyak 2 sequence,

dan USA sebanyak 1 sequence. Kandidat desain vaksin yang akan dibuat dibangun dari kawasan konservasi dari sekuen-sekuen yang telah didapatkan

Perangkat lunak MEGA-X bukan hanya penyelarasan urutan tetapi dapat membangun pohon filogenetik. Hasil konstruksi dari 6 sekuen Protein Epstein-Barr virus adalah sebagai berikut:

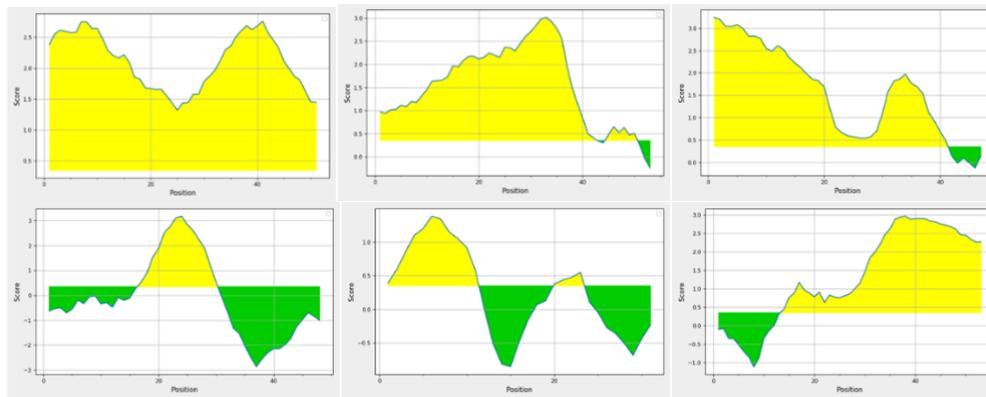
Gambar 1 yang merupakan Pohon Filogenetik dari Protein Epstein-Barr virus terdiri dari beberapa cabang, yaitu Los Angeles China, dan USA yang memiliki hubungan kekerabatan, baik dekat maupun jauh. Oleh karena itu, penelitian terkait hal tersebut masih perlu dikembangkan untuk lebih mengetahui filogenetik EBV secara global.

Studi genetik telah mengungkapkan bahwa virus Zika berevolusi menjadi 3 genotipe yang berbeda: Afrika Barat, Afrika Timur, dan Asia. Virus ini berasal dari Afrika Timur dan kemudian menyebar ke Afrika Barat dan Asia $\approx 50-100$ tahun yang lalu. Pada (Gambar 2) galur virus Zika di AS, Samoa, Singapura, Brasil, Kepulauan Fiji, dan Polinesia Prancis berkerabat dan termasuk dalam genotipe Asia. Virus Zika telah berevolusi secara bertahap dan menyebar secara geografis ke seluruh Asia dan Pasifik. Seperti halnya dengan semua virus genomik RNA, ZIKV bermutasi dengan cepat karena sifatnya yang sangat

bergantung pada RNA-RNA-polimerase yang rawan kesalahan. Tingkat mutasi virus RNA yang tinggi meningkatkan kemampuan virus ini untuk beradaptasi dengan inang yang beragam dan menyebabkan penyakit baru pada manusia dan hewan.

Strain Epstein-Barr virus perlu ditentukan pada bagian sekuen yang tidak mengalami mutasi yaitu daerah yang dilestarikan. Penyelarasan yang dilakukan dengan aplikasi MEGA-X ini bertujuan untuk memudahkan dalam mengidentifikasi sekuen yang berasal dari berbagai negara sehingga dapat menentukan kawasan konservasi. Dari urutan yang diunduh, terdapat 6 wilayah yang dilestarikan dengan potensi antigen seperti yang terlihat pada tabel 1.

Adanya kawasan konservasi sebagai template penting dalam desain vaksin, yang berdampak pada efektifitas vaksin sehingga dapat diterapkan secara global karena sekuennya ditemukan pada berbagai Epstein-Barr virus yang diteliti. Keberadaan keragaman genetik merupakan tantangan utama dalam perancangan vaksin terhadap strain virus, sehingga perlu dilakukan perancangan vaksin yang berfokus pada introduksi imunitas pada kawasan konservasi tersebut, yang dapat menjadi strategi yang layak untuk meningkatkan efektifitas vaksin terhadap berbagai strain.



Gambar 1. Potensi Epitop Sel B (Keterangan: Warna kuning menunjukkan sekuens yang memiliki potensial epitop, sedangkan warna hijau menunjukkan sekuens yang tidak memiliki potensial epitope)

Table 1. Wilayah potensi antigen

No.	Conserved Region Sequence
1	DTSGPEGSGGSGPQRRGGDNHGRGRGRGRGGGRPGAPGGSGSGPRHRDG
2	SRERARGRGRGRGEKRPRSPSSQSSSSGSPRRPPPGRPPFFHPVGEADYFEY
3	DDPGEGPSTGPRGQGDGRRKKGWFGKHRGQGGSNPKFENIAEGLR
4	LAIPQCRLTPLSRLPFGMAPGPGPQGPLRESIVCYFMVFLQTHIFAE
5	HVERTTEDGNWVAGVFVYGGSKTSLYNLRRG
6	PTCNIRVTVCSFDDGVDLPPWFPPMVEGAAEGDDGDDGDEGGDGDEGEEGQE

Analisis Epitope Sel B Menggunakan Situs Web IEDB

Adapun untuk menganalisis epitop sel B dari daerah yang dilestarikan, telah diperoleh berbagai metode, antara lain metode Kolaskar & Tangaonkar, Bepipred, dan Emini. Metode ini digunakan untuk memprediksi area spesifik pada protein yang berikatan dengan reseptor sel B, area tersebut harus berada di permukaan dan bersifat imunogenik. Berikut adalah hasil pemetaan epitop sel B dengan berbagai metode. Hasil pemetaan epitope ditampilkan dalam bentuk grafik, area berwarna kuning dianggap memiliki potensi antigenisitas yang tinggi. Nilai yang sama atau lebih besar dari nilai ambang dikatakan memiliki potensi yang kuat untuk berikatan dengan sel B. Grafik berikut menunjukkan potensi epitop sel B.

Hal penting yang harus diperhatikan terkait epitop yang akan dikembangkan menjadi vaksin adalah aksesibilitas permukaan dari epitop yang diprediksi karena akan berinteraksi dengan antibodi untuk mendapatkan respon imun. Kemudian, hidrofilitas dan fleksibilitas merupakan karakteristik epitop yang penting dalam imunogen yang juga harus diperhatikan dengan prioritas tertinggi untuk mendapatkan respon imun yang lebih baik.

Catatan : Warna kuning menunjukkan sekuens yang memiliki potensi epitop, sedangkan warna hijau menunjukkan sekuens yang tidak memiliki potensi epitop. Hal penting yang harus diperhatikan terkait epitop yang akan dikembangkan menjadi vaksin adalah aksesibilitas permukaan dari epitop yang diprediksi karena akan berinteraksi dengan antibodi untuk mendapatkan respon imun. Kemudian, hidrofilitas dan fleksibilitas adalah karakteristik penting epitop dalam imunogen yang juga harus dipertimbangkan dengan

prioritas tertinggi untuk mendapatkan respon imun yang lebih baik.

Website VaxiJen 2.0 Analisis Potensi Antigenisitas

Website VaxiJen 2.0 digunakan untuk memvalidasi hasil sekuens epitop yang ditemukan di website IEDB sebelumnya apakah imunogenik atau tidak. Pemeriksaan ini akan menghasilkan statistik berupa kata-kata "mungkin antigen" atau "mungkin non-antigen" diamati dengan skor antigenitas yang telah dianalisis menggunakan ambang batas 0,5.

Dari hasil penelitian menggunakan website VaxiJen 2.0 didapatkan skor tertinggi dari metode Bepipred adalah urutan 3 dengan epitope "VGEADY" memiliki skor 1.6641. Skor antigenisitas tertinggi untuk metode Bepipred adalah 1,2685 yang ditemukan pada urutan 1 dengan epitop "MTGKSIQPEN". Skor tertinggi pada metode Emini adalah 2,5695 pada "LTMNNK". Namun, skor antigenisitas yang tinggi tidak serta merta dapat langsung diajukan sebagai kandidat vaksin, karena perlu dilakukan pengujian untuk analisis kesamaan.

Analisis Kesamaan Menggunakan BLASTp Website NCBI

Analisis kesamaan menggunakan BLASTp bertujuan untuk melihat kesamaan antara epitop tervalidasi VaxiJen 2.0 dan reseptor permukaan pada tubuh manusia sehingga dapat mencegah terjadinya autoimun dimana sistem imun dapat menyerang tubuh itu sendiri. 8 kandidat epitop akan diuji kesamaannya menggunakan BLASTp sebagai berikut. Perlu melewati 70% untuk diterima dan dianggap tidak memiliki kesamaan dengan protein sel permukaan.

Sel B dan sel T tidak mengenali patogen secara keseluruhan melainkan melalui komponen molekuler yaitu antigen. Reseptor spesifik akan mengenali antigen pada permukaan sel B dan T. Pengenalan antigen oleh sel B dan sel T sangat berbeda. Sel-B mengenali antigen yang terpapar pelarut melalui reseptor antigen, disebut sebagai reseptor sel-B (BCR), yang terdiri dari imunoglobulin yang terikat membran. Setelah aktivasi, sel-B berdiferensiasi dan mengeluarkan bentuk imunoglobulin yang larut, yang dikenal sebagai antibodi, dan berperan dalam memediasi imunitas adaptif humoral. Antibodi yang dilepaskan oleh sel-B dapat memiliki fungsi

berbeda yang dipicu saat berikatan dengan antigen serumpunya. Fungsi-fungsi ini termasuk menetralkan racun dan patogen serta memberi label untuk dihancurkan. Epitop sel B adalah bagian dari antigen yang berikatan dengan imunoglobulin atau antibodi. Epitop yang dikenali oleh sel B ini dapat menjadi daerah pelarut yang terpapar antigen dan memiliki sifat kimia yang berbeda. Namun, sebagian besar antigen adalah protein dan tunduk pada prediksi epitop [7]. Setelah mendapatkan kandidat epitop, protein ini dapat dikembangkan menjadi vaksin melalui sistem penghantaran tertentu seperti nanopartikel lipid.

Table 2. Skor antigen dan Non-Antigen

Treshold	IEDB Method	Epitope Peptide Prediction	Result	Antigenicity Score
0,5	Bepipred	DTSGPEGSGGSGPQRRGGDNHGRGRGR GRGRGGGRPGAPGGSGS GPRHRDG	Probable Antigen	0,6257
0,5	Bepipred	SRERARGRGRGRKRPRSPSSQSSSSGSPP RRPPPGRPPFF	Probable Antigen	0,6421
0,5	Bepipred	VGEADY	Probable Antigen	1,6641
0,5	Bepipred	DDPGEGPSTGPRGQGDGRRKKGGWF GKHRGQGGSNPKFEN	Probable Antigen	0,7360
0,5	Bepipred	GMAPGPGPQPGLR	Probable Antigen	0,0072
0,5	Bepipred	HVERTTEDGNW	Probable Antigen	1,0765
0,5	Bepipred	GSKT	-	-
0,5	Bepipred	PTCNIRVTVC SFDDGVDLPPWFPPMVEG AAAEGDDGDD GDEGGDGDEGEEGQE	Probable Antigen	0,4197

Table 3. Prediksi Epitop Peptida

Prediksi Epitop Peptida	Skor Antigenisitas	Hasil BlastP
DTSGPEGSGGSGPQRRGGDNHGRGRGR GRGRGGGRPGAPGGS GSGPRHRDG	0,6257	Memiliki kemiripan dengan protein permukaan sel
SRERARGRGRGRKRPRSPSSQSSSSGSPP RRPPPGRPPFF	0,6421	Memiliki kemiripan dengan protein permukaan sel
VGEADY	1,6641	Tidak memiliki kesamaan dengan protein permukaan sel manusia
DDPGEGPSTGPRGQGDGRRKKGGWFG KHRGQGGSNPKFEN	0,7360	Memiliki kemiripan dengan protein permukaan sel
GMAPGPGPQPGLR	0,0072	Tidak memiliki kesamaan dengan protein permukaan sel manusia

HVERTTEDGNW	1,0765	Tidak memiliki kesamaan dengan protein permukaan sel manusia
GSKT	-	Tidak memiliki kesamaan dengan protein permukaan sel manusia
PTCNIRVTVCSFDDGVDLPPWFPPMVEG AAAEAGDDGDD GDEGGDGDEGEEGQE	0,4197	Memiliki kemiripan dengan protein permukaan sel

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil observasi menggunakan metode analisis urutan menggunakan aplikasi MEGA-X didapatkan dari NCBI sebanyak 6 sequence protein Epstein-Barr virus yang berasal dari 4 negara yaitu: Los Angeles 1 sequence, China sebanyak 2 sequence, dan USA sebanyak 1 sequence. Hampir setengah kasus kanker nasofaring (nasopharyngeal carcinoma/NPC) bermanifestasi awal atau terdeteksi sebagai pembesaran kelenjar limfe servikal. Sejauh ini, di antara semua tumor ganas pada suku Cina, Kanker nasofaring (nasopharyngeal carcinoma/NPC) merupakan kanker yang paling tinggi frekuensinya. Demikian pula dengan di Indonesia, kanker nasofaring (nasopharyngeal carcinoma/NPC) merupakan kanker dengan angka mortalitas tertinggi di antara kanker tubuh lainnya. Kanker nasofaring (nasopharyngeal carcinoma/NPC) tipe undifferentiated merupakan tipe yang terbanyak, terutama banyak ditemukan di daerah endemis seperti Asia Tenggara dan bagian dari Afrika. Di Hongkong, Kanker nasofaring (nasopharyngeal carcinoma/NPC) tipe undifferentiated berjumlah 18% dari semua kanker, dibandingkan dengan di seluruh dunia yang angka prevalensinya hanya sekitar 0,25%. Tipe undifferentiated merupakan tipe Kanker nasofaring (nasopharyngeal carcinoma/NPC) yang paling sering ditemukan dan merupakan endemi di daerah tertentu, terutama di Asia Tenggara. Tipe berdiferensiasi berkeratin terjadi pada populasi dengan usia lebih tua dan korelasinya terhadap EBV tidak sama seperti pada tipe undifferentiated dan tipe undifferentiated sangat berkaitan erat dengan EBV.

Berbagai macam faktor risiko dari lingkungan (diet, paparan substansi kimiawi melalui pernapasan, kebiasaan etnik) berperan terhadap terjadinya NPC namun belum ada pembuktian secara positif mengenai hubungan antar faktor. Penelitian akhir-akhir ini ditujukan pada peran kombinasi faktor lingkungan dan genetik dalam patogenesis

Kanker nasofaring (NPC) misal profil HLA (human leukocyte antigen) pada populasi Cina mengindikasikan kerentanan genetik terhadap faktor karsinogenik lingkungan. Patogenesis Kanker nasofaring (NPC) terutama pada tipe endemik agaknya mengikuti proses multi tahap di mana EBV, latar belakang etnik dan karsinogen lingkungan semuanya berperan penting dan saling terkait. Diet daging dan ikan dengan kadar garam tinggi atau makanan yang diawetkan banyak ditemukan di daerah dengan angka kejadian Kanker nasofaring (NPC) yang tinggi seperti di bagian Asia, Afrika Utara dan Artic. Makanan ini mengandung nitrat dan nitrit dengan kadar tinggi yang bereaksi dengan protein, membentuk nitrosamin yang merupakan bahan kimiawi yang dapat merusak DNA. Di samping itu zat aditif yang ditujukan sebagai pengawet dengan menghambat pembentukan eksotoksin botulinum akan berikatan dengan myoglobin dan membentuk senyawa yang sangat karsinogenik.

Dapat dikatakan bahwa yang merupakan faktor risiko tinggi di daerah endemis kanker nasofaring (NPC) adalah interaksi antara faktor host (HLA-A2, HLA-B*57:02 loci dan tempat lahir), infeksi oleh EBV dan faktor lingkungan. Ada pula peneliti yang menemukan bahwa infeksi EBV pada usia muda dikombinasi dengan seringnya terpapar oleh karsinogen dan ko-karsinogen lingkungan tampaknya merupakan penyebab terjadinya kanker nasofaring (NPC). Penelitian kontrol-kasus yang telah dilakukan di Cina membuktikan adanya hubungan antara kebiasaan makan, paparan dalam pekerjaan, penggunaan tembakau dan alkohol, riwayat keluarga yang menderita kanker nasofaring (NPC) dan IgA dengan antigen kapsid EBV (IgA/VCA). Pendapat yang sama menyatakan bahwa 85% pasien kanker nasofaring (NPC) menunjukkan antibodi terhadap EBV dan juga mengandung EBV IgA dalam serum. EBV genom terdeteksi pada sekitar 75-100% kasus NPC tipe undifferentiated. EBV dapat dideteksi dengan beberapa teknik seperti sitologi dengan sikat (brush biopsy), pemeriksaan

PCR, hibridisasi in situ, dan metode imunohistokimia. Deteksi EBV pada tipe berdiferensiasi berkeratin bervariasi dan umumnya tersebar pada sel intraepitelial yang displastik namun demikian, ada pendapat yang menyatakan bahwa untuk memonitor prognosis pasien kanker nasofaring (NPC), plasma yang bebas dari EBV-DNA lebih sensitif dan dapat diandalkan dibanding dengan VCA/IgA dan EBV/IgA

EBV secara konsisten terdeteksi pada kanker nasofaring (NPC) baik di daerah yang insidensinya tinggi maupun rendah. Tak ada tumor pada manusia yang mempunyai hubungan sekonsisten hubungan EBV dengan NPC tipe undifferentiated. EBV dikategorikan oleh IARC sebagai karsinogen utama dalam keterkaitannya dengan NPC.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil observasi yang telah dilakukan penelitian ini menggunakan metode MEGA - X di Indonesia kanker nasofaring masih menjadi kanker dengan mortalitas tertinggi yang diantara kanker tubuh lainnya. Epstein-Barr virus adalah human herpes virus yang dapat menyebabkan infeksi mononucleosis akut dan berhubungan dengan kanker dan penyakit autoimun. Epstein-Barr virus diteliti dengan cara pemeriksaan imunohistokimia dan hibridisasi in situ dimana telah diteliti dalam sepuluh kasus kanker nasofaring sembilan diantaranya ditemukan adanya EBV. Dari metode MEGA-X didapatkan 6 penggolongan struktur DNA. Analisis Epitope Sel B Menggunakan Situs Web IEDB dari ke 6 struktur yang didapatkan berdasarkan grafik yang diperoleh yaitu hasil epitop metode Bepipred yang diambil dapat berpotensi sebagai vaksin untuk kanker nasofaring. Lalu pada penelitian menggunakan website VaxiJen 2.0 didapatkan skor tertinggi dari metode Bepipred adalah urutan 3 dengan epitope "VGEADY" memiliki skor 1.6641. Skor antigenisitas tertinggi untuk metode Bepipred adalah 1,2685 yang ditemukan pada urutan 1 dengan epitop "MTGKSIQPEN". Skor tertinggi pada metode Emini adalah 2,5695 pada "LTMNNK". Namun, skor antigenisitas yang tinggi tidak serta merta dapat langsung diajukan sebagai kandidat vaksin, karena perlu dilakukan pengujian untuk analisis kesamaan. Berdasarkan Analisis kesamaan menggunakan BLASTp bertujuan untuk melihat kesamaan antara epitop tervalidasi VaxiJen 2.0 dan reseptor didapatkan hasil yang memiliki kesamaan

yaitu hanya 4 dari 8 data yang didapatkan. Setelah mendapatkan kandidat epitop, protein ini dapat dikembangkan menjadi vaksin melalui sistem penghantaran tertentu seperti nanopartikel lipid. Berdasarkan langkah-langkah yang sudah dilalui dan telah diperoleh hasil maka dapat disimpulkan bahwa kandidat epitop yang sudah didapatkan dapat digunakan untuk penggunaan vaksin.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Globocan (IARC) 2008. Section of Cancer Information. <http://www.mdguidelines.com/cancer-oral-cavity-and-oropharynx/definition> <http://globocan.iarc.fr/factsheets/populations/factsheet.asp?u>. Accessed October 20, 2011.
- [2] Kasper, T et al. (2015): Hydrological variations on the Central Tibetan Plateau since the Last Glacial Maximum and their teleconnection to inter-regional and hemispheric climate variations. *Journal of Quaternary Science*, 30(1), 70-78
- [3] Teow SY, Yap HY, Peh SC (2017) Epstein-Barr virus as a promising immunotherapeutic target for nasopharyngeal carcinoma treatment. *J Pathog* 2017:7349268. <https://doi.org/10.1155/2017/7349268>
Epstein-Barr virus and its association with disease - a review of relevance to general practice Fugl and Andersen *BMC Family Practice* (2019) 20:62 <https://doi.org/10.1186/s12875-019-0954-3>
- [4] Tsang, C.M., Deng, W., Yip, Y.L., Zeng, M., Lo, K.W., Tsao, S.W., 2014. Epstein-Barr virus infection and persistence in nasopharyngeal epithelial cells. *Chin. J. Cancer*. 33, 549-55. <https://doi.org/10.5732/cjc.014.10169>
- [5] Anzani, A. N. U. R., Martiansyah, I., & Yuliani, N. I. A. (2021). *Studi In Silico DNA barcoding pada bunga soka (Ixora)*. *November*, 168–177. *komput@si*. (n.d.). Retrieved January 21, 2023, from <http://www.komputasi.lipi.go.id/utama.cgi?artikel&1324087835>
- [6] Miftahurrahma Rosyda, & Faisal Fajri Rahani. (2020). Analisis Epitope Sel T pada SARS-Cov2 dengan Pendekatan Bioinformatika. *Jurnal Nasional Teknik Elektro Dan*

- Teknologi Informasi*, 9(3), 233–238.
<https://doi.org/10.22146/v9i3.408>
- [7] Dewi RW, Dewi VR, Yowani SC, Yustiantara PS. Desain Primer untuk Amplifikasi Regio Promoter Gen inh A Isolat P016 Multidrug Resistance Mycobacterium tuberculosis dengan Metode Polymerase Chain Reaction. *J Farm Udayana*. 2018;7(1):34-39.
- [8] Anders Fugl1 and Christen Lykkegaard Andersen1,2 Bahagiawati. Penggunaan Bacillus Thuringiensis sebagai biolarvasida. *Bul AgroBio*. 2003;5(1):21-28.