

**EFEK KOMBINASI KEMOTERAPI CAPECITABINE DENGAN EKSTRAK
PHYLANTHUS NIRURI LINN TERHADAP EKSPRESI COX – 2 DAN IL – 8
PADA TIKUS SPRAGUE DAWLEY YANG DIINDUKSI KANKER
KOLOREKTAL**



LAPORAN HASIL TESIS
Untuk memenuhi sebagai persyaratan
mencapai derajat Magister Sarjana S2
Magister Ilmu Biomedik

dr. Nurul Ahmad Isnaini
22010123420021

FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2025

LEMBAR PENGESAHAN PROPOSAL PENELITIAN

RIWAYAT HIDUP

A. Identitas

1. Nama : dr. Nurul Ahmad Isnaini
2. NIM Magister Biomedik : 22010123420021
3. Tempat / Tgl lahir : Lamongan, 16 Oktober 1991
4. Jenis Kelamin : Laki-laki

● Riwayat Pendidikan

1. SD N 1 Kuripan : Lulus Tahun 2004
2. SMP N 1 Purwodadi : Lulus Tahun 2007
3. SMA N 1 Purwodadi : Lulus Tahun 2010
4. FK Universitas Diponegoro : Lulus Tahun 2017
5. Magister Ilmu Biomedik FK UNDIP Semarang : 2023 – sekarang
6. PPDS I Bedah FK UNDIP Semarang : 2023 – sekarang

● Riwayat Pekerjaan

1. Dokter RS Bedah Mitra Lamongan
2. Dokter RS Muhamadiyah Kalikapas Lamongan

- **Riwayat Keluarga**

1. Nama Orang tua

Ayah : Paseman

Ibu : Sriyam

2. Nama Istri : dr. Alhidayatul Bidayah

3. Nama Anak : 1. Mecca Avicenna Ahmad
2. Medina Avicenna Ahmad

4. Nama Saudara Kandung

Kakak : Letkol (P) Sriadi SE

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya peneliti dapat menyelesaikan Tesis ini. Penulisan Tesis ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Magister Biomedik di Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

Dalam penulisan Tesis ini, peneliti banyak mendapatkan dukungan, bantuan, dan bimbingan dari berbagai pihak. Dalam kesempatan ini, peneliti mengucapkan terima kasih yang serta penghargaan kepada :

1. Prof. Dr. Suharnomo, S.E., M.Si sebagai Rektor Universitas Diponegoro yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk belajar serta meningkatkan pengetahuan keahlian.
2. Dr. dr. Yan Wisnu Prajoko, M. Kes, Sp. B(K) Onk sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang, yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan keahlian.
3. Prof. dr. Muhammad Thohar Arifin, Ph.D, PAK, Sp.BS(K) selaku Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan keahlian.
4. DR.dr. Albertus Ari Adrianto, M.si.Med, Sp.B, Subsp. BD(K) selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan ilmu, waktu, dan tenaga untuk membimbing penulis dalam menyusun karya tulis ilmiah ini serta selalu memberikan inspirasi untuk kami.
5. DR.dr.Udadi Sadhana M.Kes, Sp.PA, Subsp. M.S(K) selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan ilmu, waktu, dan tenaga untuk membimbing penulis dalam menyusun karya tulis ilmiah ini serta selalu memberikan inspirasi untuk kami.

6. Dr. Saekhol Bakri, M.P.H., Ph.D. selaku Penguji Ketua yang telah menyediakan waktu dan tenaga serta memberikan masukan dalam penyusunan naskah.
7. Dr. dr. Awal Prasetyo, M.Kes., Sp. THT-BKL, MM selaku Penguji yang telah menyediakan ilmu, waktu, dan tenaga untuk membimbing penulis dalam menyusun karya tulis ilmiah ini serta selalu memberikan inspirasi.
8. Orang tua tercinta, Paseman dan Sriyam yang telah memberikan dukungan dan semangat serta mendampingi penulis menyelesaikan karya tulis ilmiah ini.
9. Istri tercinta, dr. Alhidayatul Bidayah yang telah memberikan dukungan dan semangat serta mendampingi penulis menyelesaikan karya tulis ilmiah ini.
10. Teman teman tercinta yang telah memberikan dukungan dan support dalam penyusunan karya tulis ilmiah ini.

Peneliti menyadari bahwa karya tulis ilmiah ini jauh dari sempurna, untuk itu peneliti mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun. Semoga karya tulis ilmiah ini dapat bermanfaat bagi kita semua. Akhir kata, semoga Tuhan Yang Maha Esa memberikan berkat dan rahmat yang berlimpah untuk kita semua.

Semarang, September 2025

Peneliti,

dr. Nurul Ahmad Isnaini

2201012342002

DAFTAR ISI

Lembar Pengesahan Proposal Penelitian	ii
Riwayat Hidup	iii
Kata Pengantar	v
Daftar Isi	vii
Daftar Gambar	x
Daftar Tabel	xi
Bab I. Pendahuluan	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.3.1 Tujuan Umum.....	4
1.3.2 Tujuan Khusus.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Manfaat Untuk Ilmu Pengetahuan.....	5
1.4.2 Manfaat Untuk Pelayanan Kesehatan.....	5
1.4.3 Manfaat Untuk Masyarakat	6
1.5 Keaslian Penelitian	6
Bab II. Tinjauan Pustaka	9
2.1. Kanker Kolorektal	9
2.1.1 Epidemiologi.....	9
2.1.2 Etiologi Dan Faktor Resiko	10

2.1.3	Patogenesis.....	15
2.1.4	Gejala Dan Tanda.....	17
2.1.5	Diagnosis Dan Staging.....	18
2.1.6	Terapi	22
2.1.6.1.	Reseksi Bedah.....	22
2.1.6.2.	Kemoterapi	27
2.2.	Capecitabine.....	28
2.3.	Phyllanthus Niruri Linn	34
2.4.	Phyllanthus - Fungsi Anti Tumor Dalam Induksi Apoptosis.....	36
2.5.	Teknik Pemeriksaan Imunohistokimia.....	37
2.6.	Teknik Konversi Dosis.....	39
Bab III. Kerangka Teori, Kerangka Konsep, Hipotesis		42
3.1	Kerangka Teori	42
3.2	Kerangka Konsep.....	43
3.3	Hipotesis	43
Bab IV. Metode Penelitian		44
4.1	Ruang Lingkup Penelitian.....	44
4.2	Jenis Dan Rancangan Penelitian	44
4.3	Sampel Penelitian.....	44
4.4	Besar Sampel Penelitian	45
4.5	Variabel Penelitian.....	45
4.6	Teknik Pengumpulan Data.....	46
4.7	Bahan, Alat, Dan Definisi Operasional.....	47

4.8	Alur Penelitian	50
4.9	Analisis Data	50
4.10	Tempat Dan Waktu Penelitian	51
4.11	Etika Penelitian	52
Bab V. Hasil Penelitian.....		53
5.1	Karakteristik Data	54
5.2	Pemeriksaan Ekspresi Cox-2.....	54
5.3	Pemeriksaan Ekspresi IL-8	54
Bab VI. Pembahasan		60
6.4	Mekanisme Aksi Terapi	65
6.5	Keterbatasan Penelitian	67
Bab VII. Simpulan		69
Daftar Pustaka		71
Lampiran		80

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Faktor Risiko Kanker Kolorektal	11
Gambar 2. Insidensi dan Mortalitas Kanker Kolorektal berdasarkan ras dan jenis kelamin..	14
Gambar 3. Klasifikasi jalur molekuler kanker kolorektal.....	15
Gambar 4. Mekanisme inisiasi dan promosi tumor pada kanker kolorektal.....	17
Gambar 5. Gambaran endoskopi dari adenoma dan kanker kolorektal pada staging yang berbeda. (A) adenoma tubular; (B) tubulo-villous adenoma; (C) sedentary serrated adenoma tanpa displasia; (D) tubular adenocarcinoma grade 1; (E) tubular adenocarcinoma grade 2..	19
Gambar 6. Gambaran histopatologi dari adenokarsinoma kolon.....	20
Gambar 7. <i>Staging</i> TNM dari kanker kolorektal (AJCC edisi 8)	22
Gambar 8. Reseksi mukosa endoskopi yang dilakukan untuk lesi prakanker... ..	24
Gambar 9. Reseksi submucosal dengan endoskopi untuk tumor berukuran besar.	25
Gambar 10. Reseksi endoskopi <i>full-thickness</i> , pengobatan baru untuk lesi kolorektal yang tidak dapat dilakukan reseksi endoskopi konvensional.	26
Gambar 11 Kerangka teori.....	42
Gambar 12 Kerangka Konsep.....	443
Gambar 13 Alur Penelitian	50
Gambar 14 Diagram Konsort Alur Penelitian	53
Gambar 15 Diagram ekspresi COX-2 perkelompok.....	55
Gambar 16 Diagram ekspresi IL8 perkelompok.....	58
Gambar 17 Skema modulasi jalur COX-2 dan IL-8 pada kanker kolorektal	67

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Keaslian Penelitian	7
Tabel 2 Definisi Operasional	49
Tabel 3. Karakteristik Data Ekspresi COX-2 pada tiap Kelompok	55
Tabel 4 Uji Normalitas Ekspresi COX-2 pada tiap Kelompok Uji	56
Tabel 5 Uji Post Hoc Tukey HSD Ekspresi COX-2	57
Tabel 6. Karakteristik Data Ekspresi IL-8 pada tiap kelompok.....	57
Tabel 7 Uji Normalitas Ekspresi IL-8 pada tiap kelompok uji	58
Tabel 8 Uji Post Hoc Tukey HSD Ekspresi IL-8	59

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker kolorektal merupakan salah satu jenis kanker dengan angka kejadian yang tinggi di dunia. Data WHO pada tahun 2020 menunjukkan bahwa terdapat 1,9 juta kasus baru karsinoma kolorektal, yang menyusun sekitar 10% dari total kasus kanker.¹ Kanker kolorektal juga memiliki angka kematian yang tinggi di dunia, dengan hampir 1 juta kematian per tahun.^{1,2} Di negara maju, program skrining yang efektif telah berhasil menurunkan angka kejadian kanker kolorektal, namun di negara berkembang dan berpenghasilan rendah, angka kejadiannya cenderung tetap tinggi dan terus meningkat.³ Prognosis kanker kolorektal bervariasi tergantung pada stadium dan jenis pengobatan. Secara umum, angka survival rate dari karsinoma kolorektal cukup rendah, yaitu sekitar 50% dalam 5 tahun.² Selain itu, kanker kolorektal juga memiliki angka metastasis yang tinggi, mencapai 20% pada saat diagnosis, dengan hati sebagai organ metastasis utama.^{4,5} Rekurensi pada kanker kolorektal juga menjadi hal yang umum terjadi, sehingga menjadikan pasien karsinoma kolorektal memiliki kualitas hidup yang buruk.⁶ Di Indonesia, usia rata-rata pasien kanker kolorektal lebih muda dibandingkan dengan populasi di negara barat, sehingga menimbulkan beban ekonomi yang berat bagi keluarga pasien.⁷

Inflamasi memainkan peran yang sangat penting dalam pathogenesis karsinoma kolorektal.^{8,9} Riwayat merokok, konsumsi alkohol, diet yang tidak sehat,

serta kurangnya aktivitas fisik merupakan beberapa faktor risiko yang terkait dengan kanker kolorektal.¹⁰ Selain itu, faktor genetik yang terkait dengan peningkatan inflamasi, seperti overekspresi COX-2 (*Cyclooxygenase-2*). Enzim ini memediasi inflamasi dengan mengubah asam arakidonat menjadi prostaglandin. Pada karsinoma kolorektal, overekspresi COX-2 akan menstimulasi proliferasi sel kanker dan menghambat apoptosis sel, menjadikannya biomarker penting pada penyakit ini.^{11,12} Selain COX-2, sel karsinoma kolorektal juga akan memproduksi kemokin inflamatorik lain, seperti IL-6, IL-8, TNF- α , CRP, NF- κ B, dan MMP.⁸ Kemokin-kemokin tersebut, terutama IL-8 berperan dalam progresi kanker kolorektal dengan meningkatkan angiogenesis, memfasilitasi *immune evasion*, dan metastasis. Hal ini menjadikannya salah satu biomarker yang bernilai prognostik dalam evaluasi terapi kanker kolorektal.^{13,14}

Salah satu modalitas pengobatan utama kanker kolorektal adalah kemoterapi. Capecitabine, *prodrug* dari 5-fluorouracil, merupakan salah satu pilihan kemoterapi oral yang banyak digunakan dalam terapi karsinoma kolorektal, terutama pada stadium lanjut disertai metastasis.^{15,16} Obat ini memiliki kandungan fluoropyrimidine yang bekerja menghambat metabolisme nukleosida. Capecitabine dapat diberikan sebagai monoterapi lini pertama, terapi adjuvant, maupun kombinasi dengan obat lain pada KKR stadium lanjut atau metastasis.^{17,18} Meskipun memiliki toleransi yang cukup baik, obat ini memiliki efikasi yang rendah, sekitar 15% untuk monoterapi dan 50% untuk terapi kombinasi.¹⁹ Hal ini membuat banyak penelitian dilakukan untuk meningkatkan efektivitas dari

kemoterapi capecitabine, baik dengan pemberian kemoterapi kombinasi serta fitofarmaka ajuvan.^{17,20}

Phyllanthus niruri Linn (PNL), atau lebih dikenal sebagai meniran, merupakan tanaman obat yang banyak tumbuh di Indonesia. Tanaman ini telah lama dikenal memiliki kandungan fitofarmaka yang memiliki sifat hepatoprotektif, antibakteri, antivirus, antidiabetes, antiobesitas, antihiperlipidemia, dan antiinflamasi.^{21,22} Beberapa penelitian terbaru mendapati ekstrak tanaman ini juga memiliki efek antikanker, menjadikannya alternatif terapi ajuvan untuk tumor solid, seperti kanker payudara dan kanker kolon.^{21,23–25} Ekstrak PNL memberikan efek antikanker melalui mekanisme yang melibatkan imunomodulasi, induksi apoptosis, dan meningkatkan molekul sitotoksik utama.^{25,26} Tanaman ini juga memiliki efek antiinflamasi, menjadikannya terapi potensial dalam mengurangi progresivitas kanker kolorektal.^{22,27,28}

Beberapa penelitian terkait ekstrak *Phyllanthus niruri* Linn belum memberikan gambaran utuh mengenai peran fitofarmaka ini dalam mengurangi inflamasi dan meningkatkan prognosis pada kanker kolorektal serta potensinya dalam kombinasi dengan kemoterapi capecitabine. Oleh karena itu, peneliti ingin melakukan studi mengenai pengaruh PNL terhadap progresivitas kanker kolorektal, dengan penekanan utama pada ekspresi kemokin proinflamasi COX-2 dan IL-8 sebagai biomarker yang bernilai prognostik.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah disampaikan di atas, maka peneliti merumuskan masalah yaitu:

- Apakah ekstrak *Phyllanthus niruri* Linn memengaruhi ekspresi IL-8 dan COX-2 pada tikus Sprague-Dawley dengan kanker kolorektal yang diberikan kemoterapi capecitabine?
- Apakah kombinasi ekstrak *Phyllanthus niruri* Linn dengan capecitabine memberikan keluaran yang lebih baik pada tikus Sprague-Dawley dengan kanker kolorektal dibandingkan kemoterapi capecitabine saja?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Menginvestigasi efek immunomodulator pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri* Linn melalui ekspresi biomarker inflamasi IL-8 dan COX-2 pada model tikus kanker kolorektal yang diberi kemoterapi capecitabine.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Membuktikan bahwa terdapat penurunan ekspresi IL-8 pada kelompok terapi kombinasi dibandingkan kelompok kontrol normal, kontrol negatif, terapi capecitabine saja, atau terapi *Phyllanthus niruri* Linn saja.
2. Membuktikan bahwa terdapat penurunan ekspresi COX-2 pada kelompok terapi kombinasi dibandingkan kelompok kontrol normal,

kontrol negatif, terapi capecitabine saja, atau terapi *Phyllanthus niruri* Linn saja.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat untuk Ilmu Pengetahuan

Penelitian ini memberikan wawasan mendalam tentang mekanisme ekstrak *Phyllanthus niruri* Linn dalam modulasi jalur inflamasi IL-8 dan COX-2, yang penting dalam perkembangan kanker kolorektal. Hal ini berguna dalam mengisi kekosongan pengetahuan terkait efek kombinasi fitofarmaka dengan kemoterapi modern seperti capecitabine dan berpotensi memunculkan pengetahuan baru terkait penggunaan ekstrak *Phyllanthus niruri* Linn sebagai adjuvant therapy dalam pengobatan kanker kolorektal.

1.4.2 Manfaat untuk Pelayanan Kesehatan

Penelitian ini memberikan informasi mengenai dasar ilmiah untuk pengembangan terapi kanker kolorektal yang lebih efektif, hemat biaya, dan minim efek samping. Hal ini diharapkan dapat meningkatkan kualitas hidup pasien dengan kanker kolorektal. Selain itu, penelitian ini berpotensi untuk menjadi dasar dalam Mengintegrasikan bahan alam seperti *Phyllanthus niruri* Linn ke dalam protokol pengobatan kanker kolorektal.

1.4.3 Manfaat untuk Masyarakat

Penelitian ini berpotensi untuk menghadirkan solusi alternatif pengobatan kanker kolorektal berbasis fitofarmaka yang terjangkau dan rendah efek samping. Penelitian ini juga memiliki potensi untuk menjadi dasar penggunaan ekstrak *Phyllanthus niruri* Linn dalam pencegahan kanker kolorektal.

1.5 Keaslian Penelitian

Berdasarkan telusur pustaka, maka penelitian tentang pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri* Linn terhadap ekspresi COX-2 dan IL-8 pada tikus Sprague-Dawley dengan kanker kolorektal yang diberikan kemoterapi capecitabine adalah sebagai berikut:

Tabel 1. Keaslian Penelitian

No	Judul/Peneliti/ Tahun	Metode	Hasil	Perbedaan
1.	Sugeng Ibrahim, Nurul Hidayah, Fauziah Novita Putri Rifai, Dede Ginanto <i>Cooperative Impact of Curcuma longa and Phyllanthus niruri Extracts on Cytotoxicity in HCT-116 Cells</i> (2024)	Pemberian kombinasi ekstrak <i>curcuma longa</i> dan <i>Phyllanthus niruri</i> pada media kultur sel HCT116.	Kombinasi dari Ekstrak <i>Phyllanthus niruri</i> dan <i>Curcuma longa</i> menunjukkan berbagai efek sitotoksik. Kombinasi yang paling efektif diidentifikasi sebagai <i>Phyllanthus niruri</i> dengan Rasio ekstrak <i>Curcuma longa</i> 1:0,25, menghasilkan tingkat viabilitas sel sebesar 13,5%. Studi interaksi menggunakan metode Chou-Talalay menunjukkan bahwa indeks kombinasi (CI) menunjukkan efek paling sinergis pada rasio 0.25:0.50.	Penelitian in-vitro, fokus pada terapi kombinasi ekstrak <i>Phyllanthus niruri</i> dan <i>Curcuma longa</i>
2.	Michael Tendean, Ignatius Riwanto <i>The Effects of Phyllanthus niruri Linn on Infiltrating Dendritic Cell and Ratio of Neutrophile/Lymphocytes in Chemotherapy of Sprague-Dawley Rats with Colorectal Cancer</i> (2021)	39 tikus Sprague-Dawley jantan diberikan induksi 1,2-dimethylhydrazine (DMH) 30 mg/kgBB. Kelompok perlakuan diberikan capecitabine dengan kombinasi ekstrak <i>P. niruri</i> Linn	Mean $\pm$ standar deviasi sel dendritik yang menginfiltrasi menunjukkan nilai yang meningkat pada kelompok perlakuan P2 ($62,11 \pm 31,35$) dibandingkan dengan kelompok perlakuan monoterapi capecitabine P1 ($52,78 \pm 29,24$) meskipun tidak signifikan secara statistik. Rata-rata NLR juga menunjukkan peningkatan nilai yang signifikan secara statistik pada kelompok P2 ($0,13 \pm 0,05$) dibandingkan dengan	Fokus pada variabel dependen infiltrasi sel dendritik dan NLR.

				kelompok (0,04±0,01).	P1
3.	AA Adrianto, Ignatius Riwanto, et al. Enhancing colorectal cancer treatment efficacy: A comprehensive investigation into the synergistic potential of Phyllanthus niruri Linn and capecitabine in targeting cancer stem cells (2024)	57 ekor tikus Sprague-Dawley yang dibagi menjadi 5 kelompok: kontrol positif, kontrol negatif, dan intervensi dengan Phyllanthus niruri Linn, Xelloda, dan kombinasi Phyllanthus niruri Linn dan Xelloda. Semua kelompok menjalani tiga prosedur umum: pra-bedah, pembedahan, dan pasca-bedah.	Phyllanthus niruri Linn secara signifikan mengaktifkan marker CTL (CD8 dan CD-18) dibandingkan dengan kelompok kontrol (p<0,05). Kombinasi Phyllanthus niruri Linn dan Capecitabine juga secara signifikan mengurangi biomarker sel punca (CD133) dibandingkan dengan kelompok kanker (p<0,05).	Fokus pada variabel dependen biomarker CD133 dan CD-8 dan CD-18.	

Perbedaan penelitian ini dengan penelitian sebelumnya adalah dalam jenis penelitian serta fokus penelitian. Penelitian ini melibatkan variabel bebas pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri* Linn, dengan variabel terikat berupa ekspresi COX-2 dan IL-8. Penelitian dilakukan secara in-vivo pada tikus sprague-dawley dengan kanker kolorektal yang diberikan kemoterapi capecitabine.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kanker Kolorektal

2.1.1 Epidemiologi

Kanker kolorektal (KKR) merupakan jenis kanker ketiga yang paling umum di dunia, menyumbang sekitar 6.1% dari keseluruhan kasus kanker global. KKR menjadi penyebab kematian akibat kanker tertinggi kedua dengan estimasi mortalitas sebesar 9.2% secara global.^{29,30} Berdasarkan laporan WHO tahun 2020, terdapat lebih dari 1,9 juta kasus baru KKR dengan hampir 1 juta kematian di seluruh dunia.^{1,2} Pada tahun 2040, beban KKR diproyeksikan meningkat menjadi 3,2 juta kasus baru per tahun (kenaikan sebesar 63%) dan 1,6 juta kematian per tahun (kenaikan sebesar 73%).³¹ Penurunan insidensi KKR tercatat di negara-negara berpenghasilan tinggi, yang sebagian besar disebabkan oleh pelaksanaan program skrining yang efektif.³

Angka kejadian KKR di kawasan Asia Tenggara masih tergolong tinggi, dengan Indonesia berada di peringkat kedua (24,1%), setelah India (47,2%). Dalam konteks negara berpendapatan menengah ke bawah, Indonesia juga menempati peringkat kedua untuk insidensi KKR (14,1%), di bawah India (27,6%).³¹ Prognosis KKR sangat bergantung pada stadium saat diagnosis. Diagnosis dini, pengobatan yang sesuai, dan tindak lanjut yang teratur dapat meningkatkan angka *survival rate*

dan kualitas hidup penderita.² Berdasarkan data *Surveillance, Epidemiology, and End Result* (SEER) tahun 2013–2019, angka kesintasan relatif 5 tahun untuk KKR adalah 65%. *Survival rate* untuk tumor yang masih terlokalisasi tercatat sebesar 91%, sementara untuk tumor yang sudah menyebar ke kelenjar limfa adalah 72%, dan tumor metastasis sebesar 14%.³²

Kanker kolorektal memiliki angka metastasis yang tinggi, mencapai 20% pada saat diagnosis, dengan hati sebagai organ metastasis utama.^{4,5} Rekurensi pada kanker kolorektal juga menjadi hal yang umum terjadi, sehingga menjadikan pasien karsinoma kolorektal memiliki kualitas hidup yang buruk.⁶ Di Indonesia, usia rata-rata pasien kanker kolorektal lebih muda dibandingkan dengan populasi di negara barat, sehingga menimbulkan beban ekonomi yang berat bagi keluarga pasien.⁷

2.1.2 Etiologi dan Faktor Resiko

Kanker kolorektal merupakan penyakit multifaktorial yang sangat dipengaruhi oleh faktor genetik dan lingkungan. Secara etiologi, kejadian kanker kolorektal dapat dibagi menjadi tiga tipe: sporasis, herediter, dan *colitis-associated*. Berbagai studi telah mendapati bahwa faktor risiko untuk kanker kolorektal setidaknya meliputi diet dan gaya hidup, riwayat keluarga, dan inflamasi kronik.³ Beberapa faktor risiko tersebut dapat digolongkan menjadi faktor risiko non modifikabel dan faktor risiko modifikabel.

Table 2. Relative Risks for Established Colorectal Cancer Risk Factors

	Relative risk*
Factors that increase risk:	
Heredity and medical history	
Family history	
1 first-degree relative ⁵⁷	2.2
More than 1 relative ⁵⁷	4.0
Relative with diagnosis before age 45 ⁵⁸	3.9
Inflammatory bowel disease ⁸¹	1.7
Diabetes ⁸⁷	1.3
Behavioral factors	
Alcohol consumption (daily average) ¹⁴⁵	
2-3 drinks	1.2
>3 drinks	1.4
Obesity (body mass index ≥ 30 kg/m ²) ¹⁰⁴	1.3
Red meat consumption (100 g/day) ¹³¹	1.2
Processed meat consumption (50 g/day) ¹³¹	1.2
Smoking (ever vs. never) ¹³⁶	1.2
Factors that decrease risk:	
Physical activity (colon) ⁹⁷	0.7
Dairy consumption (400 g/day) ¹¹⁹	0.8
Milk consumption (200 g/day) ¹¹⁹	0.9

*Relative risk compares the risk of disease among people with a particular "exposure" to the risk among people without that exposure. Relative risk for dietary factors compares the highest with the lowest consumption. If the relative risk is more than 1.0, then risk is higher among exposed than unexposed persons. Relative risks less than 1.0 indicate a protective effect.

©2017 American Cancer Society, Inc., Surveillance Research

Gambar 1. Faktor Risiko Kanker Kolorektal³³

2.1.2.1. Faktor Risiko Modifikabel

Faktor gaya hidup, seperti obesitas, konsumsi alkohol, merokok, dan pola makan, turut berperan sebagai faktor risiko kanker kolorektal. Obesitas dikaitkan dengan resistensi insulin, inflamasi kronis, dan peningkatan faktor pertumbuhan insulin-like growth factor-1 (IGF-1), yang meningkatkan proliferasi sel kanker.³⁴

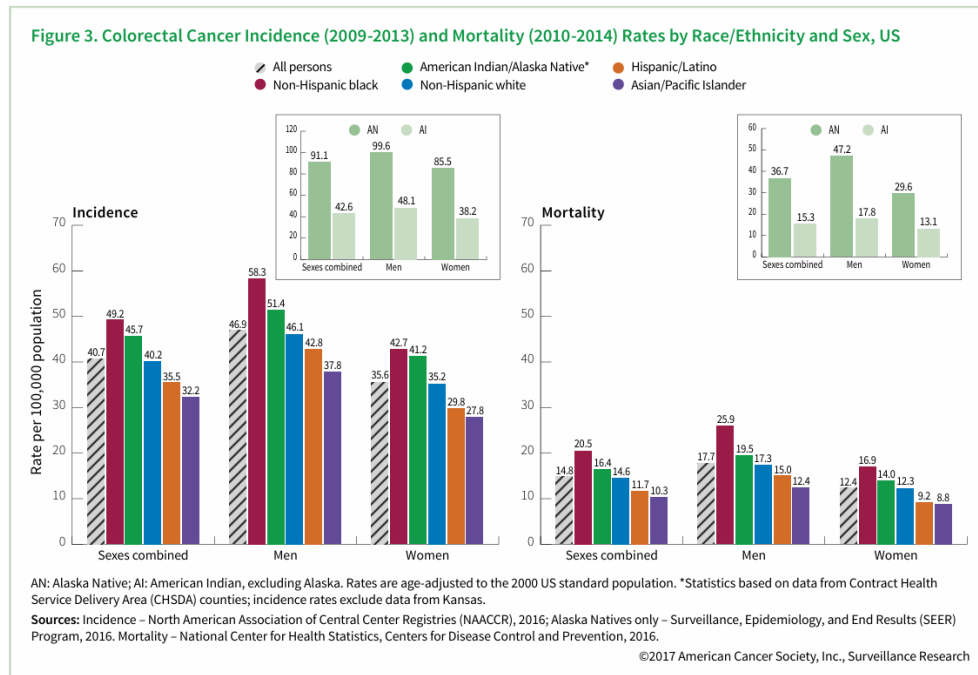
Konsumsi alkohol secara rutin meningkatkan risiko kanker kolorektal hingga 52% pada pengguna berat, sementara merokok meningkatkan risiko kanker kolorektal secara linier berdasarkan intensitas merokok, dengan OR sebesar 1,26 untuk 30 pack-years.^{3,35,36} Selain itu, pola makan yang tinggi konsumsi daging merah dan olahan meningkatkan risiko kanker kolorektal hingga 20–30%, sementara konsumsi serat dari buah, sayur, dan biji-bijian menurunkan risiko kanker kolorektal hingga 14%.^{33,37,38} Penyesuaian gaya hidup ini menjadi area pencegahan yang penting untuk mengurangi insidensi kanker kolorektal.

2.1.2.2. Faktor risiko Genetik

Faktor genetik memainkan peranan penting dalam risiko kanker kolorektal, terutama bagi individu dengan riwayat keluarga kanker kolorektal. Risiko kanker kolorektal meningkat hampir dua kali lipat pada individu dengan riwayat keluarga, sesuai dengan meta-analisis yang melibatkan 8091 kasus kanker kolorektal (RR 1,80; 95% CI 1,61–2,02).³ Sindrom Lynch dan poliposis adenomatosa familial (FAP) merupakan dua kondisi genetik utama yang meningkatkan risiko kanker kolorektal secara signifikan. Individu dengan sindrom Lynch memiliki risiko seumur hidup lebih dari 60%, sementara risiko pada penderita FAP yang tidak diobati mendekati 100%. Sindrom Lynch disebabkan oleh mutasi gen mismatch repair (MMR), seperti MLH1 atau MSH2, yang memengaruhi mekanisme perbaikan DNA. Pada FAP, mutasi pada gen APC menyebabkan pertumbuhan polip adenomatosa yang masif, meningkatkan risiko transformasi menjadi kanker.^{33,39}

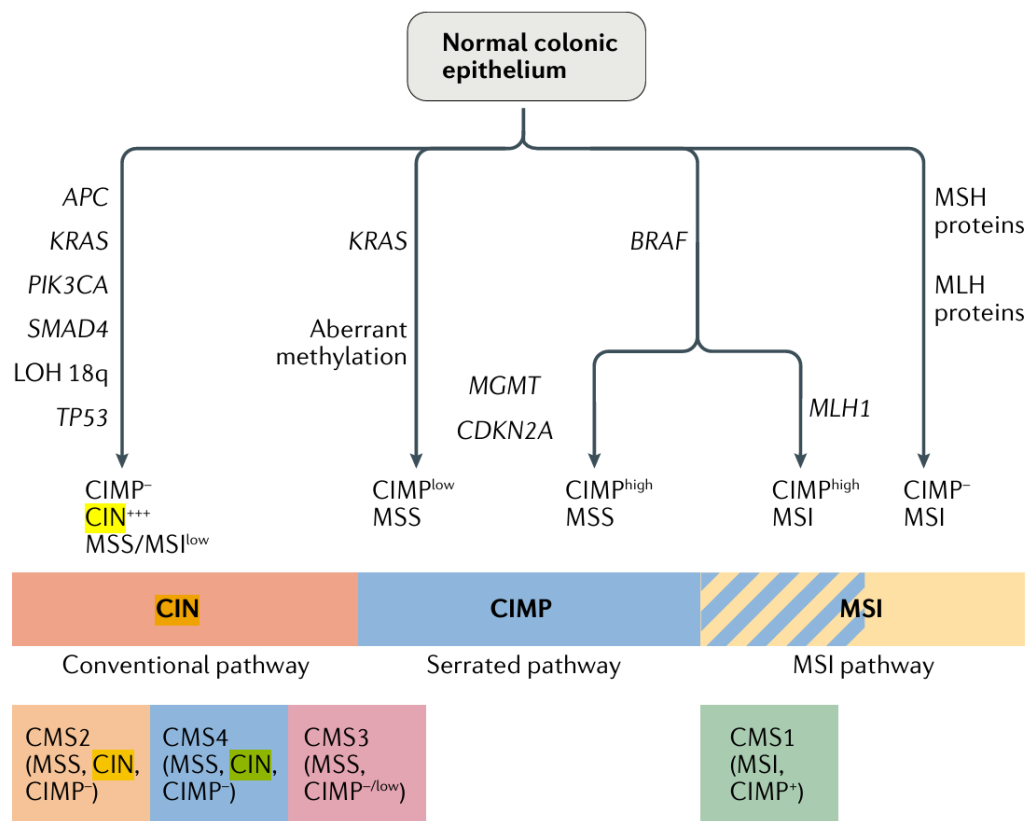
2.1.2.3. Faktor Risiko Non-Modifikabel

Kanker kolorektal (kanker kolorektal) memiliki sejumlah faktor risiko yang tidak dapat dimodifikasi, seperti usia, jenis kelamin, ras, riwayat medis individu, dan riwayat keluarga. Mayoritas kasus kanker kolorektal terjadi pada individu berusia di atas 50 tahun, dengan usia rata-rata diagnosis pada pria adalah 68 tahun dan wanita 72 tahun.⁴⁰ Menurut Steele et al., sebanyak 77% pasien kanker kolorektal berusia antara 50 hingga 79 tahun.³ Selain itu, laki-laki memiliki risiko lebih tinggi dibandingkan perempuan, terutama pada kasus kanker rektum dengan odds ratio (OR) 2,84 dibandingkan distal cancer (OR 1,84) atau proximal cancer (OR 1,62). Ras dan etnis juga memengaruhi insidensi, di mana individu kulit hitam memiliki risiko lebih tinggi untuk kanker distal (OR 1,27) dan proximal (OR 1,62) dibandingkan individu kulit putih.^{41,42} Riwayat penyakit inflamasi usus seperti kolitis ulseratif atau penyakit Crohn, serta dm tipe 2, turut meningkatkan risiko kanker kolorektal dengan RR sebesar 2,93 dan OR 1,29.⁴³



Gambar 2. Insidensi dan Mortalitas Kanker Kolorektal berdasarkan ras dan jenis kelamin³³

2.1.3 Patogenesis



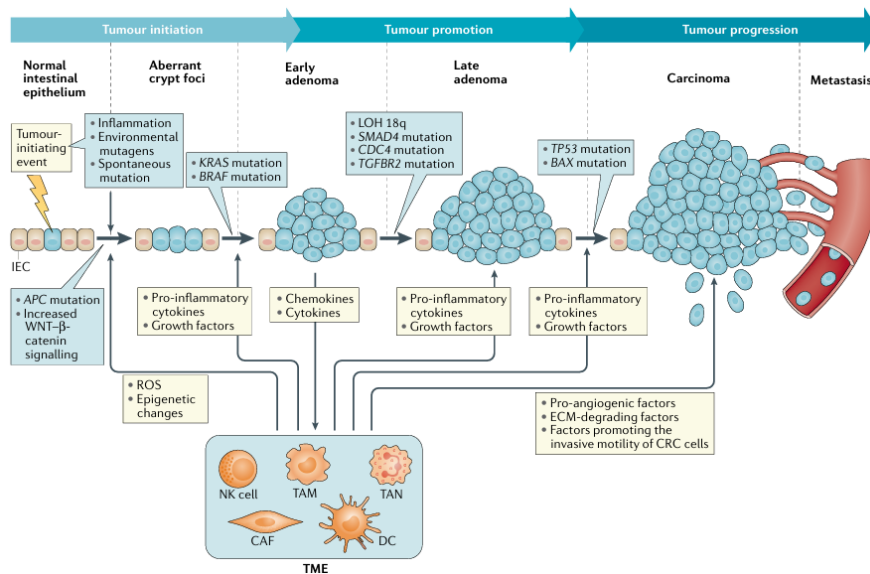
Gambar 3. Klasifikasi jalur molekuler kanker kolorektal⁸

Kanker kolorektal berkembang melalui tiga jalur molekuler utama: jalur ketidakstabilan kromosom (CIN), ketidakstabilan mikrosatelit (MSI), dan metilasi pulau CpG (CIMP). Jalur CIN, yang mencakup sekitar 70% kasus kanker kolorektal, melibatkan mutasi pada gen supresor tumor seperti APC, KRAS, dan TP53, serta ketidakstabilan kromosom tinggi. MSI, akibat disfungsi sistem perbaikan salah pasangan DNA (MMR), sering ditemukan pada kanker sisi kanan kolon. CIMP dikarakterisasi oleh mutasi gen seperti BRAF dan KRAS. Proses ini memungkinkan sel epitel usus yang normal mengalami transformasi menjadi sel

kanker melalui akumulasi mutasi genetik yang menyebabkan proliferasi dan kelangsungan hidup yang tidak terkendali.⁸

Lingkungan mikro tumor (tumor microenvironment, TME) memegang peran kunci dalam perkembangan kanker kolorektal. TME terdiri dari fibroblas terkait kanker, sel-sel vaskular, dan sel imun yang menyusup. Interaksi antara sel-sel kanker dengan TME dapat memodulasi sinyal pro-inflamasi, resistensi apoptosis, metabolisme energi, angiogenesis, serta invasi tumor. Misalnya, infiltrasi sel T sitotoksik dan memori dikaitkan dengan prognosis yang lebih baik. Namun, infiltrasi jenis sel imun lain, seperti Treg dan makrofag terkait tumor (TAM), dapat menciptakan lingkungan imun yang menekan sehingga mendukung perkembangan tumor.⁸

Inflamasi kronis menjadi faktor penting dalam patogenesis kanker kolorektal, baik melalui kerusakan DNA akibat stres oksidatif maupun perubahan epigenetik. Proses ini sering dikaitkan dengan penyakit inflamasi usus (IBD) atau gaya hidup seperti pola makan barat yang kaya lemak. Inflamasi juga meningkatkan pelepasan sitokin pro-inflamasi seperti IL-6 dan TNF- α , yang mengaktifkan jalur sinyal NF- κ B dan STAT3 untuk mendukung pertumbuhan tumor. Selain itu, inflamasi dapat merusak penghalang epitel usus, memungkinkan mikroorganisme patogen untuk memicu respons imun yang memperburuk karsinogenesis.⁸



Gambar 4. Mekanisme inisiasi dan promosi tumor pada kanker kolorektal⁸

2.1.4 Gejala dan tanda

Kanker kolorektal (kanker kolorektal) sering dicurigai ketika terdapat gejala pada saluran pencernaan bawah, seperti perdarahan rektal, nyeri perut, perubahan kebiasaan buang air besar, anemia defisiensi besi, dan penurunan berat badan yang tidak dapat dijelaskan. Kehadiran massa di perut juga dapat menjadi tanda klinis penting. Selain itu, gejala non-spesifik seperti kehilangan nafsu makan dan trombosis vena dalam perlu mendapat perhatian sebagai potensi petunjuk awal. Meskipun gejala ini tidak spesifik untuk kanker kolorektal, evaluasi lebih lanjut melalui pemeriksaan tambahan dapat membantu mengidentifikasi kemungkinan adanya kanker dan mendorong rujukan untuk jalur diagnostik yang lebih lanjut.²⁹

Secara individu, tanda atau gejala kanker kolorektal memiliki sensitivitas dan spesifisitas yang rendah untuk diagnosis. Penelitian menunjukkan bahwa keberadaan atau ketiadaan gejala tunggal jarang secara signifikan memodifikasi probabilitas deteksi kanker kolorektal. Namun, kombinasi beberapa gejala tertentu

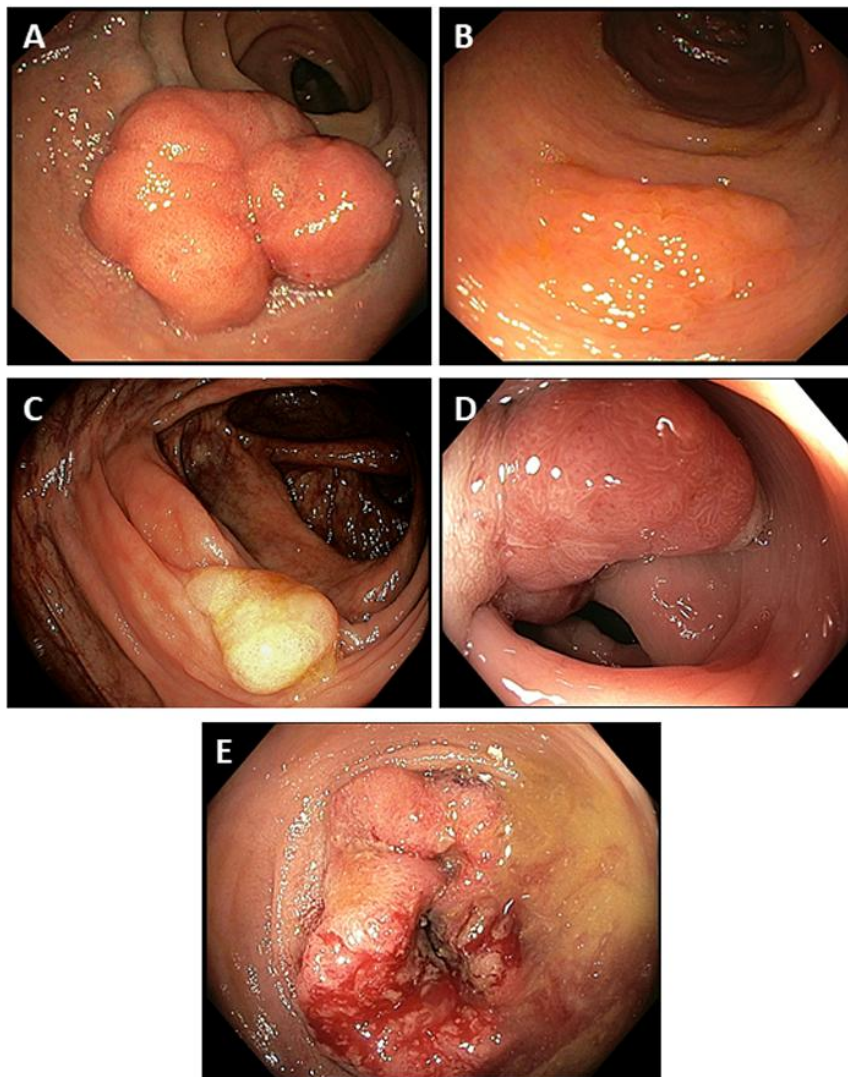
dapat meningkatkan sensitivitas dan spesifisitas diagnostik. Misalnya, temuan massa abdomen yang teraba bersama dengan perdarahan rektal berwarna merah gelap, atau kombinasi perdarahan rektal, perubahan kebiasaan buang air besar, dan penurunan berat badan, dapat memberikan petunjuk klinis yang lebih kuat untuk mendeteksi kanker kolorektal.²⁹

2.1.5 Diagnosis dan Staging

Diagnosis kanker kolorektal dimulai dengan evaluasi menyeluruh oleh dokter primer, mencakup anamnesis untuk menilai riwayat kesehatan, riwayat keluarga, serta faktor risiko individu. Pemeriksaan fisik fokus pada palpasi massa abdomen, pembesaran kelenjar limfa, atau adanya ascites yang dapat mengindikasikan kanker kolorektal. Pada pasien yang dicurigai, dokter dapat menggunakan metode skrining seperti *fecal immunochemical test* (FIT) atau *guaiac fecal occult blood test* (gFOBT). FIT memiliki keunggulan spesifisitas terhadap hemoglobin manusia dan hasil yang tidak terpengaruh oleh makanan atau obat tertentu, menjadikannya lebih andal dibandingkan gFOBT. Berdasarkan panduan NICE, FIT sangat dianjurkan pada pasien berusia 60 tahun ke atas dengan anemia defisiensi besi atau perubahan pola buang air besar yang tidak dapat dijelaskan.²⁹

Kolonoskopi merupakan metode diagnosis dengan sensitivitas dan spesifisitas tertinggi untuk kanker kolorektal, memungkinkan visualisasi seluruh kolon hingga ileum terminal. Selain itu, prosedur ini memungkinkan pengangkatan polip prakanker dan pengambilan jaringan untuk biopsi histopatologis. Sigmoidoskopi fleksibel digunakan untuk memeriksa kolon bagian kiri dan lebih

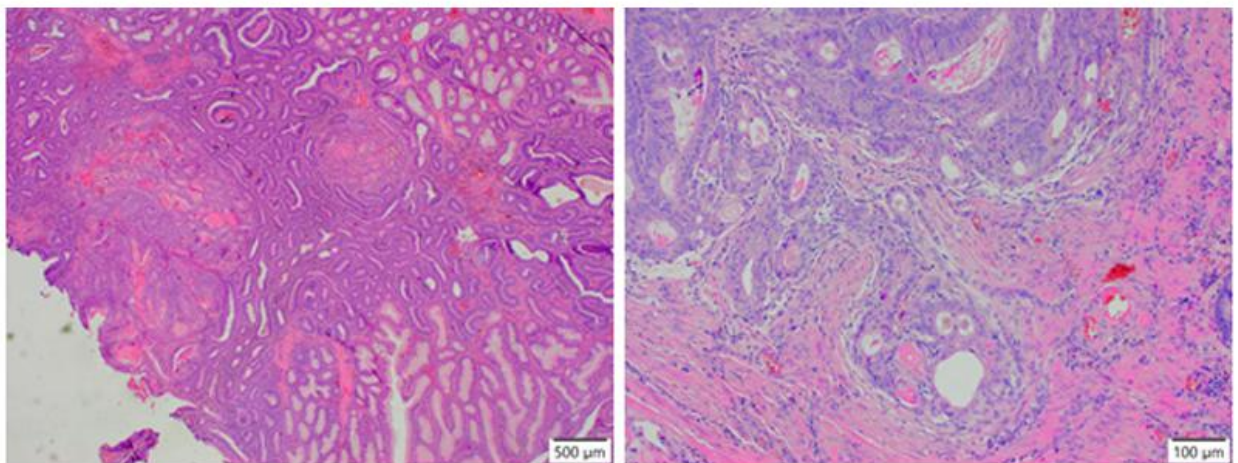
mudah dilakukan karena memerlukan persiapan yang lebih sederhana dibandingkan kolonoskopi penuh. Untuk pasien yang tidak dapat menjalani kolonoskopi konvensional, kapsul endoskopi kolon (CCE) atau *computed tomographic colonography* (CTC) menjadi alternatif non-invasif dengan sensitivitas yang memadai, khususnya pada pasien risiko sedang atau yang menolak prosedur invasif.²⁹



Gambar 5. Gambaran endoskopi dari adenoma dan kanker kolorektal pada staging yang berbeda. (A) adenoma tubular; (B) tubulo-villous adenoma; (C) sedentary

serrated adenoma tanpa displasia; (D) tubular adenocarcinoma grade 1; (E) tubular adenocarcinoma grade 2.²⁹

Biomarker seperti antigen karcinoembrionik (CEA) digunakan untuk memantau progresi dan respons terapi kanker kolorektal, meskipun kurang andal untuk diagnosis dini karena tingkat normalnya dapat ditemukan pada sebagian pasien dengan kanker kolorektal. Evaluasi genetik untuk mutasi pada gen KRAS, BRAF, serta instabilitas mikrosatelit (MSI) atau *mismatch repair* (MMR) membantu menentukan prognosis dan pendekatan terapi yang optimal, termasuk penggunaan terapi *anti-EGFR* atau 5-fluorourasil. Dalam kasus metastasis, penggunaan biomarker genetik ini menjadi penting untuk menentukan strategi pengobatan yang dipersonalisasi. Selain itu, biopsi cair yang mendeteksi DNA tumor sirkulasi (ctDNA) menjadi metode non-invasif yang menjanjikan untuk memprediksi respons terhadap terapi dan mendeteksi kekambuhan.²⁹



Gambar 6. Gambaran histopatologi dari adenokarsinoma kolon.²⁹

Kemajuan teknologi mendukung deteksi kanker kolorektal secara lebih akurat. Kolonoskopi berbasis kecerdasan buatan (AI) dengan teknologi *narrow-*

band imaging (NBI) telah meningkatkan deteksi polip hingga 95% dibandingkan endoskopi cahaya putih konvensional (WLE). Sistem diagnostik berbantuan komputer (*computer-aided diagnosis*, CAD) dapat menentukan histologi polip dengan akurasi hingga 84%. Teknik pencitraan seperti *diffusion-weighted MRI* (DW-MRI) atau *fibroblast activation protein inhibitor PET* (FAPI-PET) menunjukkan sensitivitas tinggi untuk mendeteksi metastasis bahkan pada lesi kecil. Penelitian juga menunjukkan potensi mikrobiota usus sebagai biomarker diagnostik tambahan, di mana ketidakseimbangan mikrobiota tertentu terkait dengan perkembangan kanker kolorektal. Integrasi metode ini memungkinkan pendekatan diagnostik yang lebih komprehensif, meningkatkan deteksi dini, dan mendukung pengelolaan pasien kanker kolorektal secara individual.²⁹

Kanker kolorektal berdasarkan tingkat keparahan penyakitnya dapat diklasifikasikan menurut *staging* TNM, singkatan dari tumor, *nodes*, dan metastasis. *Staging* dengan metode ini menilai tingkat keparahan dari tumor yang ada, seberapa ekstensif infiltrasinya, apakah ada penyebaran tumor ke limfonodi atau ke jaringan lain.⁴⁴

Table 1 TNM classification and staging of colorectal cancer (AJCC eighth edition)			
Primary tumor staging (T)			
T0	No evidence of primary tumor		
Tis	Carcinoma in situ		
T1	Tumor invades submucosa		
T2	Tumor invades muscularis propria		
T3	Tumor invades through the muscularis propria into the pericolic tissue		
T4a	Tumor penetrates to the surface of the visceral peritoneum (serosa)		
T4b	Tumor invades and/or is adherent to other organs or structures		
Regional lymph node staging (N)			
N0	No regional lymph node metastasis		
N1a	Metastasis in 1 regional lymph node		
N1b	Metastasis in 2–3 regional lymph node		
N1c	Tumor deposits in subserosa, mesentery, or nonperitonealized pericolic or perirectal tissues without regional nodal metastases		
N2a	Metastasis in 4–6 regional lymph nodes		
N2b	Metastasis in 7 or more regional lymph nodes		
Distant metastasis staging (M)			
M0	No distant metastasis		
M1a	Metastasis confined to 1 organ or site		
M1b	Metastasis in more than 1 organ/site or the peritoneum		
Stage	T	N	M
0	Tis	N0	M0
I	1–2	N0	M0
IIA	T3	N0	M0
IIB	T4a	N0	M0
IIC	T4b	N0	M0
IIIA	T1–T2	N1–N1c	M0
	T1	N2a	M0
IIIB	T3–T4a	N1–N1c	M0
	T2–T3	N2a	M0
	T1–2	N2b	M0
IIIC	T4a	N2a	M0
	T3–T4a	N2b	M0
	T4b	N1–N2	M0
IVA	Any T	Any N	M1a
IVB	Any T	Any N	M1b

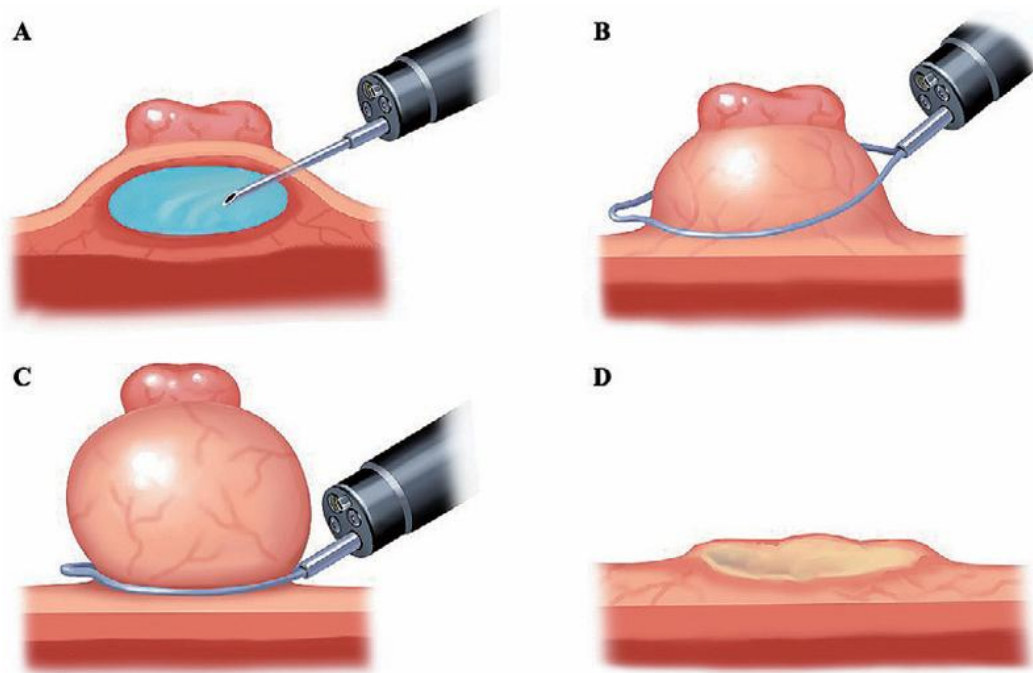
Gambar 7. *Staging* TNM dari kanker kolorektal (AJCC edisi 8)⁴⁴

2.1.6 Terapi

2.1.6.1. Reseksi Bedah

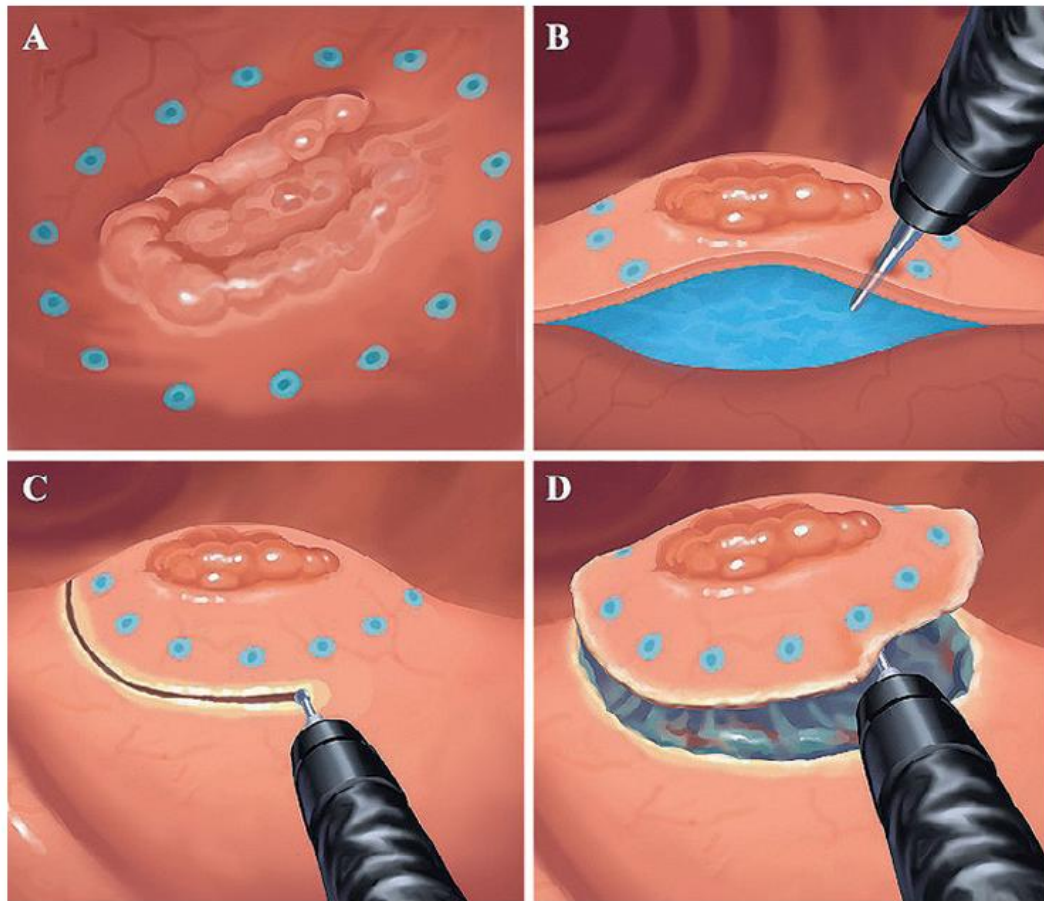
Pendekatan endoskopik telah menjadi modalitas utama untuk pengelolaan kanker kolorektal (CRC) tahap awal, terutama untuk lesi yang terlokalisasi pada lapisan mukosa atau submukosa tanpa invasi limfovaskular. Dua teknik utama

adalah *endoscopic mucosal resection* (EMR) dan *endoscopic submucosal dissection* (ESD). EMR dilakukan dengan menyuntikkan larutan ke ruang submukosa untuk mengangkat lesi, kemudian jaringan diambil menggunakan snare. Prosedur ini dapat dilakukan secara en bloc atau bertahap, tergantung pada ukuran dan lokasi lesi. Di sisi lain, ESD menawarkan pendekatan yang lebih presisi, dengan pisau khusus untuk mendiseksi lapisan submukosa, yang ideal untuk lesi besar atau kompleks. Pada kasus tertentu, *endoscopic full-thickness resection* (EFTR) menjadi pilihan inovatif untuk mengangkat lesi yang melibatkan lapisan otot. Prosedur ini memungkinkan pengangkatan lesi hingga kedalaman penuh dengan meminimalkan kebutuhan akan pembedahan besar. Studi menunjukkan bahwa terapi endoskopik memiliki tingkat keberhasilan teknis yang tinggi dan komplikasi minimal, asalkan dilakukan oleh tenaga medis yang terlatih.⁴⁵



Gambar 8. Reseksi mukosa dengan endoskopi yang dilakukan untuk lesi prakanker.⁴⁵

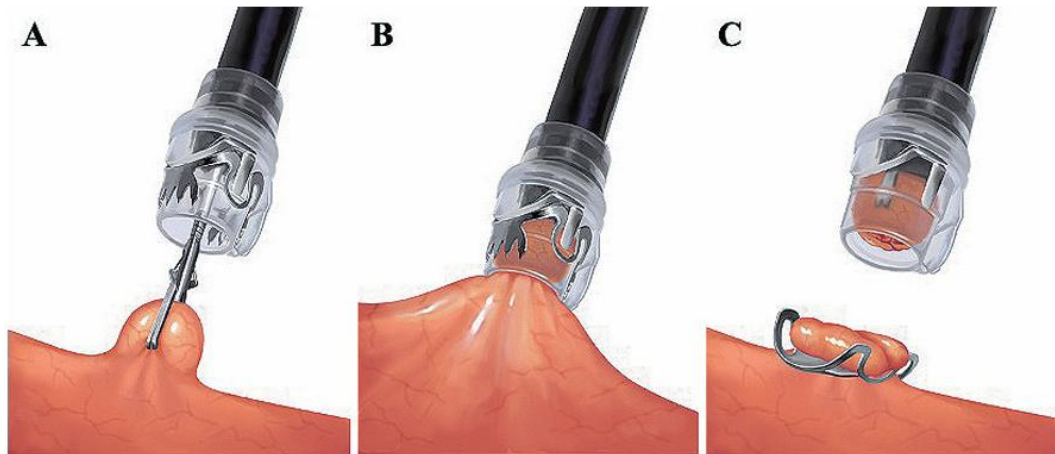
Pada beberapa kasus, pengangkatan endoskopik mungkin sulit dilakukan karena faktor seperti ukuran, lokasi, atau sifat lesi (misalnya, polip sessile besar). Untuk kondisi ini, pendekatan kombinasi endoskopi dan laparoskopi (*combined endoscopic and laparoscopic surgery*, CELS) telah muncul sebagai solusi. CELS menawarkan keuntungan signifikan dibandingkan pembedahan laparoskopik konvensional, termasuk pengurangan komplikasi, penurunan biaya, serta konservasi lebih banyak jaringan kolon. Dalam prosedur ini, lesi diidentifikasi dan ditangani menggunakan teknik endoskopik, sementara laparoskopi digunakan untuk mendukung akses atau stabilisasi jaringan. CELS sangat berguna untuk pasien dengan polip kompleks yang tidak dapat diangkat sepenuhnya secara endoskopik, tanpa meningkatkan risiko bedah yang signifikan.⁴⁵



Gambar 9. Reseksi submucosal dengan endoskopi untuk tumor berukuran besar.⁴⁵

Untuk kanker kolorektal stadium lanjut, pembedahan tetap menjadi standar emas dengan tujuan kuratif. Prosedur seperti reseksi mesokolik lengkap (*complete mesocolic excision*, CME) untuk kanker kolon dan eksisi mesorektal total (*total mesorectal excision*, TME) untuk kanker rektum adalah pendekatan utama. CME melibatkan diseksi sepanjang lapisan mesokolik dengan pengangkatan kelenjar getah bening regional secara menyeluruh, sementara TME dilakukan dengan fokus pada pengangkatan mesorektum yang utuh untuk mengurangi risiko kekambuhan lokal. Selain itu, pada pasien dengan kanker rektum di bawah refleksi peritoneal,

diseksi kelenjar getah bening lateral sering dilakukan untuk meningkatkan hasil onkologis.⁴⁵



Gambar 10. Reseksi endoskopi *full-thickness*, pengobatan baru untuk lesi kolorektal yang tidak dapat dilakukan reseksi endoskopi konvensional.⁴⁵

Teknologi modern seperti laparoskopi dan robotik telah meningkatkan efisiensi dan akurasi pembedahan CRC. Laparoskopi memberikan manfaat berupa pemulihan pascaoperasi yang lebih cepat, pengurangan infeksi luka operasi, dan penurunan masa rawat inap, meskipun efektivitasnya pada kanker kolon transversus masih membutuhkan studi lebih lanjut. Sementara itu, pembedahan berbantuan robot menawarkan presisi yang lebih tinggi melalui visualisasi tiga dimensi dan instrumen yang lebih fleksibel. Teknologi navigasi berbasis fluoresensi dengan *indocyanine green* (ICG) telah memungkinkan evaluasi aliran darah dan perfusi anastomosis secara real-time, sehingga mengurangi risiko kebocoran anastomosis. Selain itu, sistem berbasis kecerdasan buatan (*artificial intelligence*) kini digunakan untuk mendukung analisis mikro-sirkulasi selama pembedahan, yang memberikan keunggulan dalam deteksi dini komplikasi.⁴⁵

Pembedahan sering kali menjadi bagian dari pendekatan multidisiplin dalam pengelolaan CRC, terutama pada pasien dengan penyakit stadium lanjut. Kombinasi dengan terapi neoadjuvan atau adjuvan, termasuk kemoterapi dan radioterapi, membantu mengecilkan tumor sebelum operasi atau mencegah kekambuhan pascaoperasi. Prosedur pembedahan modern, seperti *transanal total mesorectal excision* (TaTME), juga semakin banyak digunakan untuk mempertahankan margin reseksi sirkumferensial yang optimal dan mengurangi risiko komplikasi. Dengan perkembangan teknologi dan kolaborasi multidisiplin, hasil onkologis dan kualitas hidup pasien CRC terus meningkat.⁴⁵

2.1.6.2. Kemoterapi

Kemoterapi memainkan peran penting dalam pengelolaan kanker kolorektal (CRC), terutama sebagai terapi adjuvan untuk mendukung hasil bedah. Tujuannya adalah mengeliminasi sel-sel tumor mikroskopis yang mungkin tersisa pascaoperasi, sehingga mengurangi risiko kekambuhan lokal dan metastasis. Terapi ini direkomendasikan pada pasien dengan kanker kolon stadium III dan subkelompok stadium II yang berisiko tinggi, termasuk tumor T4 atau keterlibatan kelenjar getah bening kurang dari 12. Selain itu, pada pasien dengan CRC metastatik, kemoterapi digunakan untuk memperpanjang kelangsungan hidup dan memperbaiki kualitas hidup.⁴⁵

Kemoterapi adjuvan untuk CRC biasanya menggunakan protokol berbasis fluoropirimidin, seperti kombinasi 5-fluorourasil (5-FU) dan kalsium folinat (leucovorin), kapesitabin oral, atau protokol yang mencakup oxaliplatin. Dalam

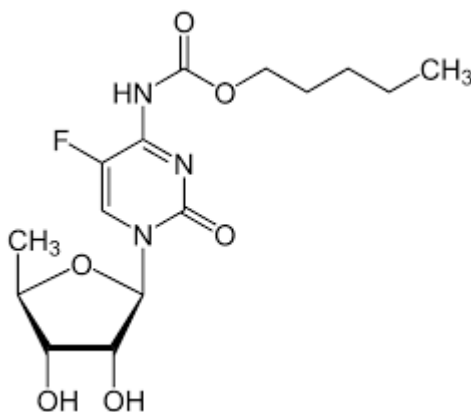
protokol FOLFOX, dosis 5-FU diberikan dalam bentuk bolus intravena 400 mg/m² diikuti infus 2400–3000 mg/m² selama 46 jam, dikombinasikan dengan leucovorin 200 mg/m² dan oxaliplatin 85 mg/m² pada hari pertama setiap siklus selama 14 hari. Untuk pasien yang memilih terapi oral, kapesitabin diberikan pada dosis 1250 mg/m² dua kali sehari selama 14 hari diikuti jeda 7 hari (regimen 21 hari per siklus). Uji klinis MOSAIC menunjukkan bahwa FOLFOX meningkatkan kesintasan bebas penyakit (DFS) pada pasien dengan CRC stadium III, menjadikannya protokol yang sering digunakan secara global.⁴⁵

Sebagai bagian dari pendekatan multidisiplin, kemoterapi neoadjuvan sering digunakan pada pasien dengan kanker rektum stadium lokal lanjut untuk mengecilkan ukuran tumor dan meningkatkan kemungkinan reseksi R0 (margin bebas tumor). Pada pasien yang menjalani operasi reseksi kuratif, kemoterapi ajuvan selama 3–6 bulan direkomendasikan, tergantung pada faktor risiko dan toleransi pasien. Penggunaan terapi kombinasi oxaliplatin dengan fluoropirimidin (FOLFOX atau XELOX) menjadi pilihan utama, dengan hasil yang menunjukkan pengurangan kekambuhan hingga 20–30% pada pasien stadium III. Integrasi kemoterapi dengan modalitas lain seperti terapi target atau imunoterapi juga memberikan peluang untuk meningkatkan hasil pengobatan secara keseluruhan.⁴⁵

2.2. Capecitabine

Capecitabine adalah prodrug oral dari 5-fluorouracil (5-FU) yang dirancang untuk memberikan toksisitas yang lebih selektif pada jaringan tumor melalui konversi metaboliknya. Obat ini digunakan secara luas untuk pengobatan berbagai

jenis kanker, termasuk kanker kolorektal, payudara, dan lambung. Selektivitas capecitabine dicapai melalui ekspresi tinggi enzim thymidine phosphorylase di jaringan tumor dibandingkan jaringan normal. Hal ini memungkinkan akumulasi 5-FU secara lokal, sehingga memaksimalkan efek antikanker dan meminimalkan efek samping sistemik seperti mielosupresi.^{46,47}



Gambar 11. Gambaran molekul capecitabine.⁴⁷

2.2.1. Farmakokinetik

Capecitabine diserap dengan baik setelah pemberian oral dan menjalani metabolisme bertahap di hati dan jaringan. Enzim carboxylesterase di hati mengonversi capecitabine menjadi 5'-deoxy-5-fluorocytidine (5'-DFCR), yang kemudian diubah menjadi 5'-deoxy-5-fluorouridine (5'-DFUR) oleh cytidine deaminase. Akhirnya, thymidine phosphorylase mengonversi 5'-DFUR menjadi 5-FU aktif di jaringan tumor. Capecitabine memiliki waktu paruh pendek, dengan ekskresi utamanya melalui urin sebagai metabolit inaktif seperti α -fluoro- β -alanine (FBAL).^{47,48}

2.2.2. Farmakodinamik

Sebagai analog nukleotida, 5-FU mengganggu sintesis DNA dan RNA dengan menghambat thymidylate synthase, enzim kunci dalam sintesis pirimidin. Selain itu, 5-FU dapat terintegrasi ke dalam RNA, yang menyebabkan gangguan fungsi dan sintesis protein. Efek ini menyebabkan apoptosis sel tumor. Distribusi enzim thymidine phosphorylase yang berbeda di tubuh menjelaskan toksisitas terbatas capecitabine terhadap jaringan normal.^{47,48}

2.2.3. Kegunaan dalam kemoterapi Kanker

Capecitabine digunakan secara luas dalam pengobatan kanker kolorektal, payudara, lambung, dan pankreas, baik sebagai monoterapi maupun dalam kombinasi dengan agen lain seperti oxaliplatin dan docetaxel. Pada kanker kolorektal, capecitabine telah menunjukkan efektivitas setara dengan infus 5-FU dalam pengaturan adjuvan dan metastasis. Pada kanker payudara, capecitabine efektif pada kasus yang resistan terhadap antrasiklin dan taksan. Dalam kanker lambung, kombinasi capecitabine dengan agen berbasis platinum menunjukkan hasil klinis yang baik dengan profil toksisitas yang dapat ditoleransi.^{46,47}

Capecitabine juga memiliki potensi sebagai agen imunomodulator dengan menurunkan subset limfosit T tertentu melalui apoptosis yang dimediasi oleh stres retikulum endoplasma dan produksi reactive oxygen species (ROS). Potensi ini menjadikannya kandidat untuk pengembangan lebih lanjut sebagai agen yang menggabungkan efek imunomodulator dan antikanker.⁴⁸

2.2.4. Efek Terhadap Kanker Kolorektal pada Penelitian Hewan

Dalam berbagai studi pada hewan, capecitabine secara konsisten menunjukkan efek antikanker yang kuat terhadap tumor kolorektal. Ketika diberikan secara tunggal pada tikus dengan kanker kolon, capecitabine mampu secara signifikan memperlambat pertumbuhan tumor selama periode empat minggu. Hewan yang diobati juga menunjukkan perbaikan dalam kesehatan umum, seperti penurunan berat badan yang lebih sedikit, warna kulit yang lebih baik, dan peningkatan jumlah sel darah putih dibandingkan dengan yang tidak menerima pengobatan.⁴⁹

Para peneliti juga telah meneliti dampak kombinasi capecitabine dengan agen lain. Misalnya, ketika capecitabine diberikan bersama ludartin, kombinasi tersebut tidak hanya memperpanjang periode penekanan tumor dari empat menjadi enam minggu tetapi juga memperpanjang masa hidup median hewan dari 38 menjadi 55 hari. Kombinasi ini terbukti sangat efektif dalam mengurangi pembentukan pembuluh darah baru dalam tumor, seperti yang ditunjukkan oleh penurunan tingkat VEGF dan kepadatan pembuluh darah mikro—faktor kunci dalam membatasi pertumbuhan dan penyebaran tumor.⁴⁹

Studi lain menggabungkan capecitabine dengan garam kalsium laktat (LCS) pada tikus yang membawa xenograft kanker kolorektal manusia. Kombinasi ini menyebabkan nekrosis tumor total, efek yang jauh lebih dramatis dibandingkan nekrosis parsial yang terlihat dengan capecitabine saja. Volume dan berat tumor juga berkurang secara signifikan dengan terapi kombinasi ini.⁵⁰

Selain itu, penggunaan probiotik bersama capecitabine pada model tikus kanker kolorektal tidak hanya meningkatkan tingkat kelangsungan hidup tetapi juga

membantu mengurangi beberapa efek samping yang sering terkait dengan kemoterapi, seperti masalah pencernaan.⁵¹ Secara mekanis, capecitabine dan kombinasi obatnya tampaknya bekerja dengan menekan angiogenesis—memutus pasokan darah ke tumor—dan membatasi penyebaran kanker ke organ lain. Secara keseluruhan, studi hewan ini menyoroti efektivitas capecitabine baik sebagai terapi tunggal maupun kombinasi dalam model praklinis kanker kolorektal, memberikan dasar yang kuat untuk penggunaannya dalam praktik klinis.^{49–51}

2.2.5. Efek Terhadap Kanker Kolorektal pada Penelitian Manusia

Dalam setting adjuvant, terutama untuk pasien dengan kanker kolorektal stadium III yang telah menjalani reseksi bedah, capecitabine terbukti setidaknya sama efektifnya dengan regimen 5-FU intravena tradisional. Uji klinis X-ACT yang melibatkan hampir dua ribu pasien menunjukkan bahwa capecitabine tidak inferior dibandingkan dengan protokol standar bolus 5-FU/leucovorin dalam hal kelangsungan hidup bebas penyakit dan kelangsungan hidup keseluruhan. Faktanya, pasien yang menerima capecitabine mengalami tingkat kelangsungan hidup bebas kambuh yang sedikit lebih baik. Pentingnya, lebih banyak pasien dapat menyelesaikan seluruh kursus pengobatan capecitabine dibandingkan dengan mereka yang menggunakan 5-FU, meskipun beberapa memerlukan penyesuaian dosis akibat efek samping seperti sindrom tangan-kaki.^{47,52}

Bagi pasien dengan kanker kolorektal metastasis, capecitabine juga menunjukkan hasil yang mengesankan. Studi fase III besar menunjukkan bahwa

capecitabine menghasilkan tingkat respons objektif yang lebih tinggi daripada 5-FU/leucovorin, artinya lebih banyak tumor menyusut atau menghilang dengan terapi oral ini. Meskipun demikian, kelangsungan hidup keseluruhan dan waktu hingga penyakit progresif pada dasarnya setara antara kedua pengobatan. Yang membedakan capecitabine adalah profil keamanannya yang lebih baik. Pasien yang menggunakan capecitabine mengalami lebih sedikit efek samping serius dan memerlukan rawat inap yang lebih sedikit. Hal ini, dikombinasikan dengan kemudahan pemberian oral, membuatnya menjadi pilihan menarik bagi banyak pasien, terutama mereka yang ingin meminimalkan waktu yang dihabiskan di fasilitas medis.^{17,18,47}

Peneliti terus mengeksplorasi cara untuk meningkatkan efektivitas capecitabine. Studi terbaru menyarankan bahwa kombinasi capecitabine dengan agen seperti garam kalsium laktat (LCS) dapat lebih meningkatkan aktivitas antitumornya. Studi laboratorium dan hewan menunjukkan bahwa kombinasi ini mengganggu jalur kelangsungan hidup sel kanker, menyebabkan kematian sel tumor yang lebih besar dan memungkinkan penggunaan dosis capecitabine yang lebih rendah dan kurang toksik.⁵⁰

Meta-analisis dari beberapa uji klinis memperkuat temuan ini, secara konsisten menunjukkan bahwa regimen berbasis capecitabine memberikan hasil setidaknya setara, jika tidak lebih unggul, dibandingkan terapi berbasis 5-FU, dengan tambahan manfaat toksisitas yang lebih rendah. Akibatnya, capecitabine kini secara luas direkomendasikan sebagai dasar pengobatan kanker kolorektal,

terutama bagi pasien yang lebih memilih obat oral atau tidak memenuhi syarat untuk regimen intravena yang lebih intensif.

Secara ringkas, capecitabine telah terbukti sebagai pengobatan yang sangat efektif dan ditoleransi dengan baik untuk kanker kolorektal, menawarkan pasien alternatif yang lebih nyaman dan seringkali lebih aman dibandingkan kemoterapi intravena tradisional. Penelitian yang sedang berlangsung bertujuan untuk lebih memperbaiki penggunaannya, mengoptimalkan dosis, dan menjajaki kombinasi baru untuk memaksimalkan manfaatnya sambil meminimalkan efek samping.¹⁷

2.3. *Phyllanthus Niruri* Linn

Phyllanthus niruri Linn, atau lebih dikenal sebagai meniran, merupakan tanaman obat yang banyak tumbuh di Indonesia. Tumbuhan ini termasuk dalam genus *Phyllanthaceae* dan memiliki sejarah panjang dalam pengobatan tradisional Ayurvedic, Cina, dan Melayu. PNL dikenal memiliki beragam kandungan fitokimia yang bermanfaat, termasuk flavonoid, alkaloid, terpenoid, lignin, polifenol, tannin, coumarin, dan saponin.⁵³ Kandungan fitofarmaka ini memberikan sifat hepatoprotektif, antibakteri, antivirus, antidiabetes, antiobesitas, antihiperlipidemia, antiinflamasi, dan antikanker.^{21,22}

Beberapa penelitian terbaru menunjukkan bahwa ekstrak *Phyllanthus niruri* Linn memiliki efek antikanker yang signifikan, menjadikannya alternatif terapi adjuvan untuk tumor solid seperti kanker payudara dan kanker kolorektal.^{21,23–25} Aktivitas antikanker PNL melibatkan berbagai mekanisme, termasuk

imunomodulasi, induksi apoptosis, dan peningkatan ekspresi molekul sitotoksik utama seperti perforin. Pada kanker kolorektal, ekstrak PNL menunjukkan potensi untuk meningkatkan respons imun seluler antitumor dengan mengoptimalkan aktivitas sel NK dan limfosit T sitotoksik (CD8+). Studi in vivo pada hewan coba menunjukkan bahwa ekstrak ini meningkatkan ekspresi perforin, yang berperan penting dalam memastikan apoptosis sel kanker.^{25,26}

Selain itu, PNL diketahui memiliki kemampuan menghambat proliferasi sel kanker melalui gangguan pada jalur transduksi sinyal, penghambatan siklus sel, dan aktivasi caspase. Mekanisme ini berdampak pada penangkapan fase siklus sel (cell cycle arrest) dan induksi apoptosis pada berbagai jenis kanker, termasuk sel kanker prostat dan melanoma. Kombinasi ekstrak PNL dengan agen kemoterapi seperti cisplatin menunjukkan efek sinergis dalam menginduksi kematian sel kanker kolorektal dan hepatoseluler.^{25,26}

Sifat antiinflamasi dari *Phyllanthus niruri* Linn juga menjadikannya terapi potensial untuk mengurangi progresivitas kanker kolorektal. Dalam uji klinis fase dua, pemberian ekstrak PNL pada pasien kanker kolorektal terbukti meningkatkan indeks apoptosis melalui peningkatan infiltrasi limfosit tumor.²⁵ Dengan kemampuan imunomodulator dan induksi apoptosis yang dimiliki, *Phyllanthus niruri* Linn memiliki potensi besar untuk dikembangkan sebagai agen antikanker yang efektif, baik sebagai monoterapi maupun terapi adjuvan.

2.4. *Phyllanthus* - Fungsi Anti Tumor Dalam Induksi Apoptosis

Spesies *Phyllanthus*, termasuk *Phyllanthus emblica*, *P. amarus*, dan *P. niruri*, telah diteliti secara luas karena sifat antitumornya, terutama kemampuannya untuk memicu apoptosis pada sel kanker. Tanaman-tanaman ini kaya akan polifenol bioaktif, tanin (seperti asam ellagic, asam gallic, corilagin, dan asam chebulagic), serta flavonoid, yang berkontribusi pada efek sitotoksik dan kemopreventifnya terhadap berbagai jenis kanker, termasuk kanker payudara, prostat, paru-paru, usus besar, ovarium, dan leukemia.^{54,55}

Aktivitas antitumor ekstrak *Phyllanthus* sebagian besar dikaitkan dengan kemampuannya untuk memodulasi siklus sel dan memicu apoptosis secara selektif pada sel kanker sambil melindungi sel normal. Studi eksperimental pada garis sel kanker prostat manusia (PC-3) dan melanoma (MeWo) menunjukkan bahwa ekstrak air dan metanol *Phyllanthus* menyebabkan penghentian siklus sel pada fase G0/G1 atau S, disertai dengan penumpukan sel yang meningkat pada fase sub-G1, yang menunjukkan terjadinya apoptosis. Induksi apoptosis ini dimediasi melalui aktivasi caspase-3 dan caspase-7, enzim protease eksekutor utama dalam jalur kematian sel terprogram, dengan kematian sel nekrotik minimal yang diamati, menyoroti mekanisme sitotoksik yang ditargetkan.⁵⁶

Pada tingkat molekuler, ekstrak *Phyllanthus amarus* menghambat DNA topoisomerase II dan enzim pengatur siklus sel seperti cdc25 tirosin fosfatase, mengganggu perbaikan DNA dan progres siklus sel, yang berkontribusi pada induksi apoptosis. Selain itu, senyawa seperti corilagin yang diisolasi dari *Phyllanthus niruri* menunjukkan sitotoksitas spektrum luas dan dapat bersinergi

dengan agen kemoterapi (misalnya cisplatin) untuk meningkatkan efektivitas antitumor. Komponen polifenolik juga memiliki efek antioksidan yang mengurangi kerusakan DNA oksidatif, berpotensi mencegah mutagenesis dan progresivitas tumor.⁵⁷

Studi *in vivo* mendukung temuan ini, dengan pemberian ekstrak *Phyllanthus amarus* memperpanjang survival dan mengurangi volume tumor pada model tikus Dalton's lymphoma dan Ehrlich ascites carcinoma. Kemampuan ekstrak untuk menghambat enzim cytochrome P450 yang terlibat dalam aktivasi karsinogen lebih lanjut mendukung peran kemopreventifnya. Namun, jalur apoptosis yang diaktifkan oleh senyawa *Phyllanthus* masih perlu dielaborasi secara menyeluruh, sehingga memerlukan studi mekanistik lebih lanjut.

2.5. Teknik Pemeriksaan Imunohistokimia

Pemeriksaan imunohistokimia merupakan teknik analisis jaringan yang bertujuan mendeteksi keberadaan antigen spesifik pada sel menggunakan prinsip pembentukan kompleks antigen-antibodi. Prosedur ini melibatkan inkubasi antibodi sekunder yang terkonjugasi dengan enzim. Kehadiran substrat dan kromogen memungkinkan enzim untuk mengkatalisis reaksi sehingga menghasilkan endapan berwarna pada lokasi kompleks antigen-antibodi.⁵⁸ Mekanisme pemeriksaan imunohistokimia terdiri dari beberapa tahap, yaitu:

1. Deparafinisasi

Proses ini bertujuan menghilangkan residu parafin yang menyusup ke jaringan dengan menggunakan larutan xilena dan alkohol.⁵⁸

2. Retrieval Antigen

Tahap ini bertujuan mengaktifkan kembali antigen yang mengalami denaturasi akibat proses fiksasi dan embedding parafin. Aktivasi dilakukan dengan pemanasan dalam larutan buffer pada suhu 100°C selama 5–10 menit, untuk meningkatkan kemampuan antigen dalam mengikat antibodi.⁵⁸

3. Blokade Peroksidase Endogen

Proses ini dilakukan untuk menonaktifkan protein non-spesifik, seperti peroksidase endogen, yang dapat mengganggu reaksi antigen-antibodi. Blokade dilakukan dengan larutan hidrogen peroksida 3% selama sekitar 5 menit.⁵⁸

4. Aplikasi Antibodi

Antibodi diaplikasikan dalam dua tahap, yaitu antibodi primer dan antibodi sekunder. Antibodi primer mengenali antigen spesifik, sedangkan antibodi sekunder terkonjugasi dengan enzim untuk memperkuat sinyal pewarnaan.⁵⁸

5. Penambahan Kromogen

Enzim yang terkonjugasi pada antibodi sekunder memediasi perubahan warna kromogen yang ditambahkan, menghasilkan endapan berwarna yang tidak larut sebagai penanda lokasi antigen.⁵⁸

6. Pewarnaan Latar Belakang

Tahap akhir melibatkan pewarnaan latar belakang untuk meningkatkan kontras hasil, sehingga ikatan antigen-antibodi dengan kromogen dapat lebih jelas dibandingkan dengan area sekitarnya.⁵⁸

2.6. Teknik Konversi Dosis

Dalam penelitian praklinis, terutama saat mentransfer temuan terapeutik dari studi manusia ke model hewan, konversi dosis yang akurat sangat penting untuk memastikan efektivitas dan keamanan. Skalasi berdasarkan berat badan saja tidak memadai karena perbedaan antarspesies dalam metabolisme, fisiologi, dan farmakokinetik. Sebagai gantinya, skalasi alometrik telah muncul sebagai pendekatan yang luas diterima dan didasarkan pada prinsip biologis untuk ekstrapolasi dosis antarspesies.⁵⁹

Skalasi allometrik didasarkan pada prinsip bahwa laju metabolisme dan proses disposisi obat—seperti absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi—menyesuaikan diri secara lebih andal dengan luas permukaan tubuh (BSA) daripada hanya berdasarkan berat badan. Metode ini memungkinkan peneliti untuk memperkirakan dosis yang relevan secara farmakologis pada model hewan, terutama rodentia, menggunakan data yang diperoleh dari penggunaan klinis manusia atau pedoman terapeutik yang telah ditetapkan.⁵⁹

Inti dari konversi dosis allometrik adalah penggunaan faktor koreksi yang dikenal sebagai K_m , yang mencerminkan hubungan antara berat badan dan luas permukaan untuk spesies tertentu. Nilai K_m untuk manusia umumnya distandarisasi pada 37, berdasarkan rata-rata berat badan dewasa 60 kg dengan BSA 1,62 m². Sebaliknya, tikus laboratorium standar dengan berat sekitar 20 gram dan BSA 0,007 m² memiliki nilai K_m sekitar 3. Nilai spesifik spesies ini memungkinkan penerapan rumus konversi berikut:⁵⁹

Dosis Setara Hewan (AED, mg/kg) = Dosis Manusia (mg/kg) × (Km Manusia / Km Hewan)

Menggunakan rumus ini, dosis manusia 5 mg/kg akan setara dengan sekitar 61,5 mg/kg pada tikus ($5 \times 37/3$). Peningkatan yang signifikan ini mencerminkan laju metabolisme dan klirens obat yang lebih tinggi pada hewan kecil, serta menunjukkan potensi underdosing jika berat badan digunakan sebagai parameter skalasi tunggal.⁵⁹

Setelah perhitungan dosis, formulasi untuk administrasi memerlukan pertimbangan praktis tambahan. Pada model tikus, volume injeksi standar biasanya dibatasi hingga 10 mL/kg untuk meminimalkan stres fisiologis dan variabilitas penyerapan. Oleh karena itu, untuk tikus berberat 20 gram, volume injeksi maksimum yang direkomendasikan adalah 0,2 mL. Peneliti harus menyiapkan larutan obat dengan konsentrasi yang dapat memberikan dosis yang diinginkan dalam batasan volume ini. Misalnya, untuk memberikan dosis 61,5 mg/kg, tikus berberat 20 gram harus menerima 1,23 mg obat dalam 0,2 mL larutan—membutuhkan konsentrasi stok sekitar 6,15 mg/mL.⁵⁹

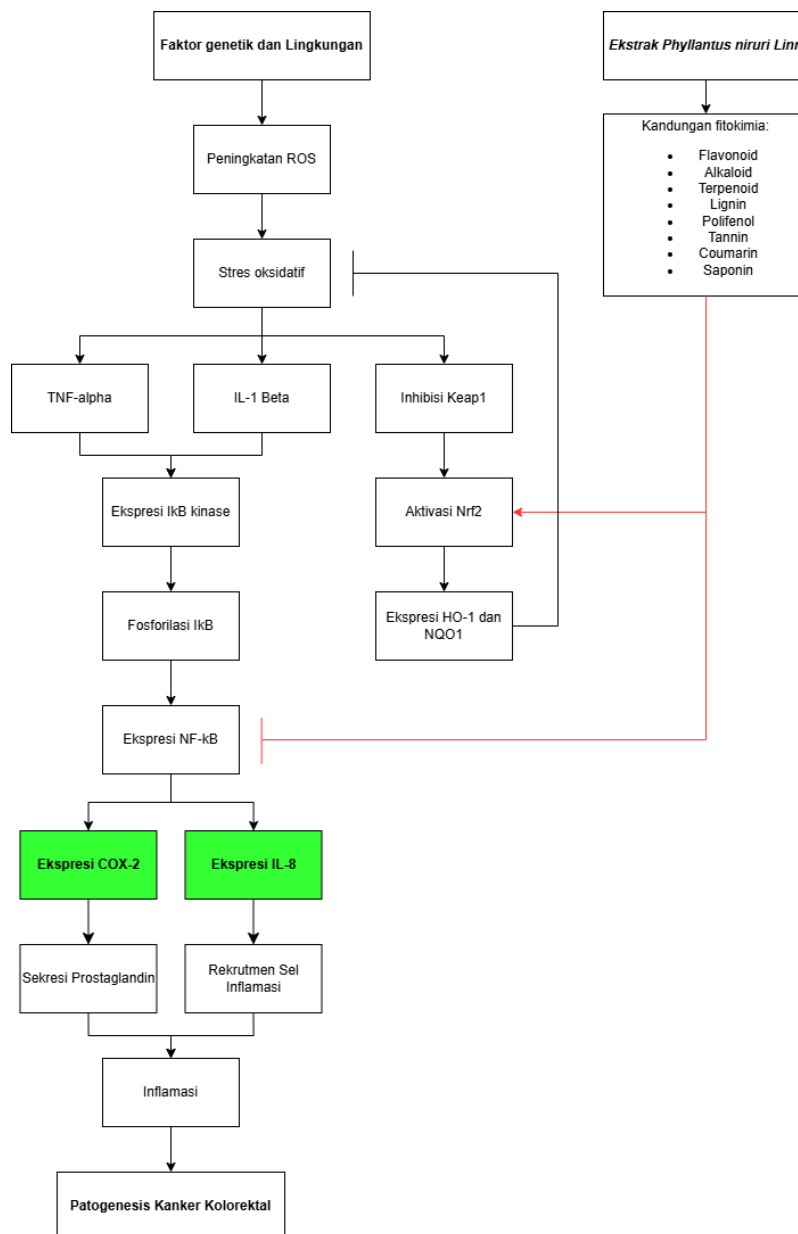
Meskipun berguna, skalasi alometrik tidak tanpa batasan. Skalasi ini paling efektif dengan asumsi farmakokinetik linier, asumsi yang tidak berlaku untuk semua senyawa. Obat yang menunjukkan metabolisme non-linear, mekanisme klirens spesifik spesies, atau bioavailabilitas yang buruk mungkin memerlukan penyesuaian empiris dan validasi melalui studi farmakokinetik dan toksikologi pilot. Selain itu, metode allometrik tidak memperhitungkan perbedaan kualitatif seperti sensitivitas reseptor, distribusi jaringan, atau ekspresi enzim, yang dapat bervariasi secara signifikan antar spesies.⁵⁹

Namun, ketika diterapkan dengan tepat, skalasi allometrik merupakan alat dasar dalam farmakologi praklinis. Dengan melampaui ekstrapolasi linier yang sederhana dan memasukkan faktor skalasi fisiologis, peneliti dapat merancang regimen dosis yang relevan secara translasional dan etis. Perkiraan Dosis Setara Manusia (*Human Equivalent Dose*, HED) yang dihasilkan meningkatkan nilai prediktif model hewan dan memfasilitasi transisi yang lebih efektif dari laboratorium ke klinik dalam pengembangan obat.⁵⁹

BAB III

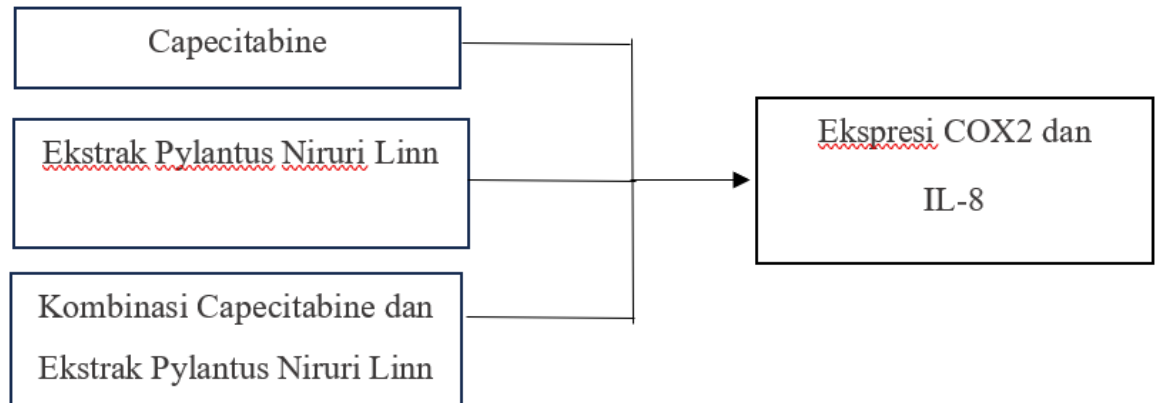
KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP, DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Teori



Gambar 11 Kerangka teori

3.2 Kerangka Konsep



Gambar 12 Kerangka Konsep

3.3 Hipotesis

A. Hipotesis Mayor

Ekstrak *Phyllanthus niruri* Linn dapat menurunkan ekspresi COX2 dan menurunkan ekspresi IL-8 pada eksperimental KKR tikus Sprague-Dawley yang diberi kemoterapi capecitabine

B. Hipotesis Minor

- Terdapat penurunan ekspresi COX2 pada kelompok terapi kombinasi dibandingkan kelompok kontrol normal, kontrol negatif, terapi capecitabine, atau terapi *Phyllanthus niruri* Linn.
- Terdapat penurunan ekspresi IL-8 pada kelompok terapi kombinasi dibandingkan kelompok kontrol normal, kontrol negatif, terapi capecitabine, atau terapi *Phyllanthus niruri* Linn

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup disiplin ilmu dari penelitian ini adalah Ilmu Kedokteran, khususnya Ilmu bedah, patologi anatomi, dan biokimia.

4.2 Jenis dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain *true experimental* dengan *post-test only control group design*. Model ini bertujuan untuk mengamati efek perlakuan berupa pemberian ekstrak *Phyllanthus niruri* Linn terhadap ekspresi IL-8 dan COX2 pada tikus Sprague-Dawley dengan kanker kolorektal yang diberikan kemoterapi capecitabine.

4.3 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah tikus *Sprague-Dawley* jantan yang sehat, berusia 6-7 minggu, dengan berat badan 170-220 gram.

Kriteria inklusi

- Tikus jantan, sehat, umur 6-7 minggu.
- Strain Sprague-Dawley.
- Berat badan 170-220 gram.
- Timbul adenokarsinoma pada kolon.

Kriteria eksklusi

- Berat badan tikus berkurang nyata dan tampak sakit
- Terdapat kelainan anatomis

Kriteria *dropout*

- Mati selama periode penelitian

4.4 Besar Sampel Penelitian

Jumlah sampel yang diperlukan untuk menilai efek tanaman herbal secara eksperimental pada tikus didasarkan pada pedoman *Institutional Animal Care and Use Committee Guidebook* serta Organisasi Kesehatan Dunia (WHO), yaitu minimal 5 ekor per kelompok dengan menerapkan prinsip 3R (*Replacement, Reduction, and Refinement*).⁵⁷ Jumlah sampel penelitian total sebesar 43 sampel, yang dibagi menjadi 5 kelompok, terdiri dari: 1.) Kontrol normal (Kn) sebesar 9 sampel (20,9%), 2.) Kontrol negatif (K-) sebesar 9 sampel (20,9%), 3.) Kontrol positif (K+) sebesar 8 sampel (18,6%), 4.) Perlakuan pertama (X1) sebesar 8 sampel (18,6%), dan Perlakuan kedua (X2) sebesar 9 sampel (20,9%). Semua sampel penelitian ini menggunakan tikus jantan strain Sprague-Dawley umur 2 bulan (6-7 minggu), dengan berat badan antara 170-220gr.

4.5 Variabel Penelitian

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pemberian kemoterapi capecitabine

dan ekstrak *Phyllanthus niruri* Linn. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah kadar COX2 dan IL-8 dalam kolon.

4.6 Teknik Pengumpulan Data

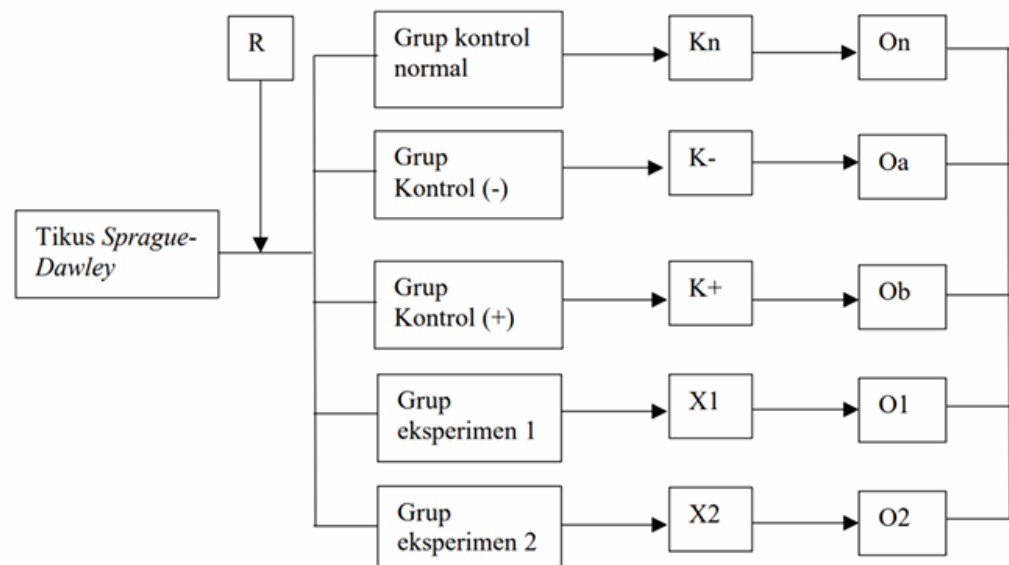
A. Induksi Kanker Kolorektal

Induksi kanker dilakukan dengan pemberian 1,2-dimethylhydrazine (DMH) secara subkutan dengan dosis 30 mg/kg berat badan. Pemberian dilakukan satu kali setiap minggu selama 15 minggu.

B. Pemberian Perlakuan

Sebelum diberikan perlakuan, tikus diberikan jeda selama 3 minggu pasca induksi DMH terakhir. Tikus kemudian dikelompokkan menjadi 5 kelompok:

- Kn: Kontrol normal.
- K-: Kontrol negatif (DMH tanpa terapi).
- K+: DMH + capecitabine.
- X1: DMH + *Phyllanthus niruri* Linn.
- X2: DMH + kombinasi capecitabine dan *Phyllanthus niruri* Linn.



Capecitabine diberikan secara oral dengan dosis 500 mg/m²/hari selama 14 hari. Ekstrak *Phyllanthus niruri* Linn diberikan dengan metode gavage oral. Dosis yang diberikan sebesar 200mg/kg/hari.

C. Pengukuran variabel

Eksresi IL-8 dan COX2 dianalisis menggunakan teknik immunohistokimia. Teknik lengkap dijelaskan pada lampiran 1.

4.7 Bahan, Alat, dan Definisi Operasional

4.7.1 Bahan

- Bahan perlakuan: ekstrak *Phyllanthus niruri* Linn, tikus galur Sprague-Dawley jantan, karsinogen 1,2 DMH sebagai induktor, obat kemoterapi capecitabine, pakan AD II.
- Bahan pembuatan sediaan jaringan histopatologi untuk pemeriksaan immunohistokimia, sebagai berikut: jaringan kolon, antibodi COX2

(monoclonal antibody, EPR12012 / ab179800), antibodi IL-8 (EPR20772 / ab214030), phosphate formalin buffer 10%, aseton, xylol, benzol, parafin cair, alkohol (absolut 70%, 80%, 96%), TRIS-buffered saline (TBS) Tween, phosphate buffered saline (PBS) pH 7,4, buffer sitrat pH 6,0, akuades, hematoksin meyer, 3,3'-Diaminobenzidine (DAB), Goat Anti Rabbit horseradish peroxidase (HRP) Conjugate, Mouse Specifying, DNA extraction buffer (DPX).

4.7.2 Alat

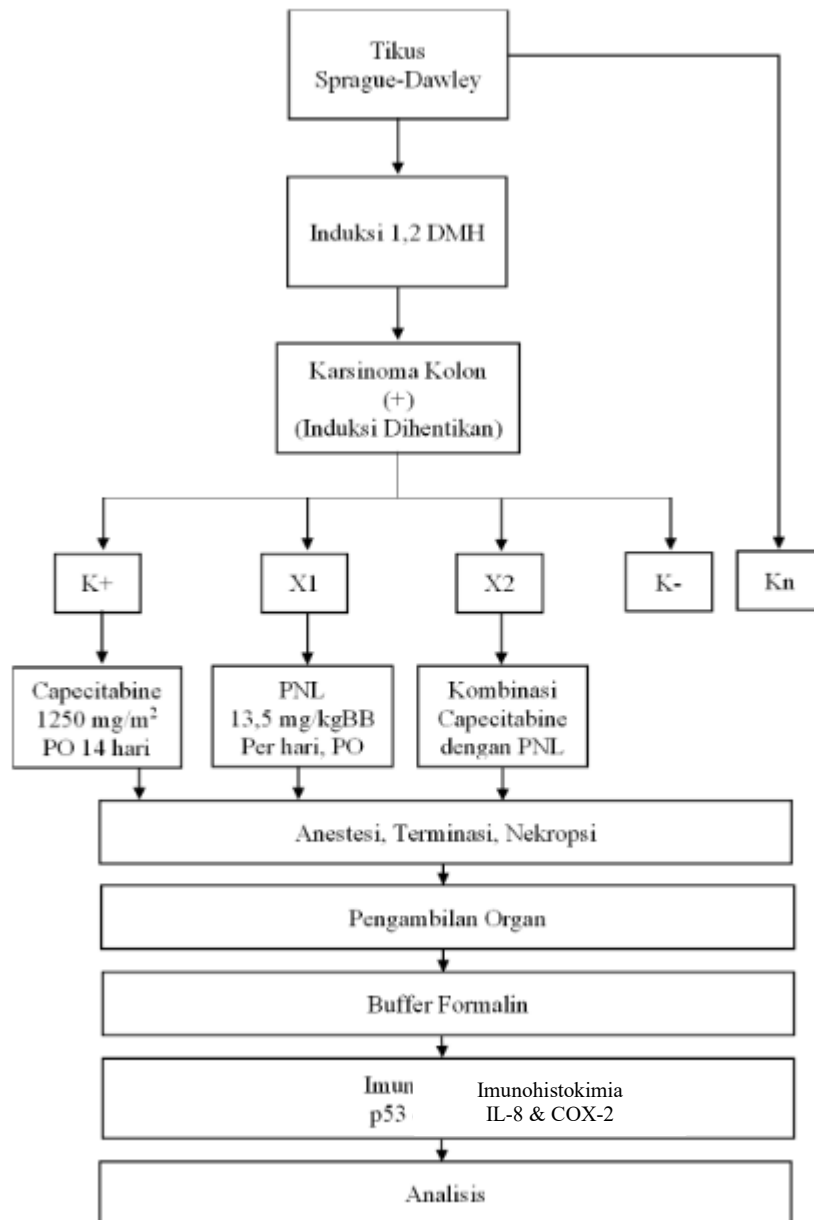
- Alat untuk pemeliharaan dan perlakuan: timbangan, kandang hewan coba, sonde lambung, spuit disposable, erlenmeyer, dan vortex untuk membuat larutan P. niruri, wadah karsinogen.
- Alat pembuatan sediaan jaringan: mikrotom LeicaR RM-2135, kaca objek dan penutupnya, digital tissue processor LeicaR, tissue blocking LeicaR EG-1160, dan auto stainer Leica-XLR.
- Alat untuk pewarnaan imunohistokimia: pensil PAP, tempat pewarnaan dan pencucian, timer, pipet serologik, pipet Ependorf, tabung plastik, kertas saring, waterbath, freezer dan microwave ToshibaR.
- Alat untuk pengamatan dan dokumentasi sediaan: 1 unit mikroskop confocal ZEISS LSM 800 dengan mode brightfield yang tersambung dengan komputer laboratorium, software yang digunakan dalam dokumentasi sediaan adalah Zen 2.3 System. Perhitungan sel positif dan negatif dengan software ImageJ.

4.7.3 Definisi Operasional

Tabel 2 Definisi Operasional

Nama Variabel	Definisi Operasional	Skala
Pemberian kemoterapi capecitabine dan ekstrak <i>Phyllanthus niruri</i> Linn	Pemberian kemoterapi capecitabine 500 mg/m ² /hari dalam 2 dosis per hari selama 14 hari; Ekstrak seluruh bagian <i>Phyllanthus niruri</i> Linn dengan pelarut alkohol, metode maserasi sesuai standar GLP dan CGMP, diberikan dosis 13,5 mg/kgBB perhari peroral persone. Ekstrak yang dipakai didapatkan dari ekstrak yang sudah dipasarkan dalam bentuk kapsul merk dagang Stimuno®.	Nominal
Ekspresi COX2	Diperiksa dengan metode imunohistokimia. Nilai yang digunakan pada variabel ini dihitung berdasarkan persentase COX2 dalam seluruh populasi sel (skor sel positif)	Numerik
Ekspresi IL-8	Diperiksa dengan metode imunohistokimia. Nilai yang digunakan pada variabel ini dihitung berdasarkan persentase IL-8 dalam seluruh populasi sel (skor sel positif)	Numerik

4.8 Alur Penelitian



Gambar 13 Alur Penelitian

4.9 Analisis Data

Data yang terkumpul diolah melalui proses editing, coding, entrying and cleaning data, lalu data dianalisis secara statistik menggunakan software program

Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) IBM versi 22. Semua sampel penelitian ini menggunakan tikus jantan strain Sprague-Dawley umur 2 bulan (6-7 minggu), dengan berat badan antara 170-220 gr. Dilakukan uji homogenitas menggunakan *Levene test* dengan nilai $p > 0.05$ menunjukkan hasil homogen. Uji normalitas data menggunakan Shapiro-Wilk. Bila data terdistribusi normal, dilakukan uji ANOVA dilanjutkan uji *post hoc* (Tukey HSD).

4.10 Tempat dan Waktu Penelitian

Pemeliharaan dan intervensi hewan coba dilaksanakan di Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Unit IV (Pre Klinik) Universitas Gajah Mada (UGM) Yogyakarta. Pemeliharaan semenjak masa seleksi sampai masa perlakuan berlangsung dalam waktu 5,5 bulan (Januari-Juni 2025). Hewan uji dikarantina dan diaklimatisasikan selama satu minggu menggunakan kandang fasilitas kandang Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) Unit IV (Pre Klinik) Universitas Gajah Mada (UGM) Yogyakarta. Hewan uji dipelihara pada kamar hewan yang secara otomatis suhu ruangan dipertahankan pada suhu pada 23 , humiditas relatif 75 ± 1 5%, dan siklus gelap/ terang 12 jam per hari. Tikus diberi pakan pellet AD II dan minum air RO water secara *ad libitum*. Tikus dikandangkan dalam kandang dengan ukuran 482 x 267 x 210 mm. Ruangan kandang ditempatkan dalam kondisi yang tenang dan diminimalisasi kebisingan 78 dari luar. Pemeriksaan histopatologi mulai dari pembuatan blok paraffin dilakukan di Fakultas Kedokteran, Kesehatan Masyarakat dan Keperawatan (FK-KMK) UGM.

4.11 Etika Penelitian

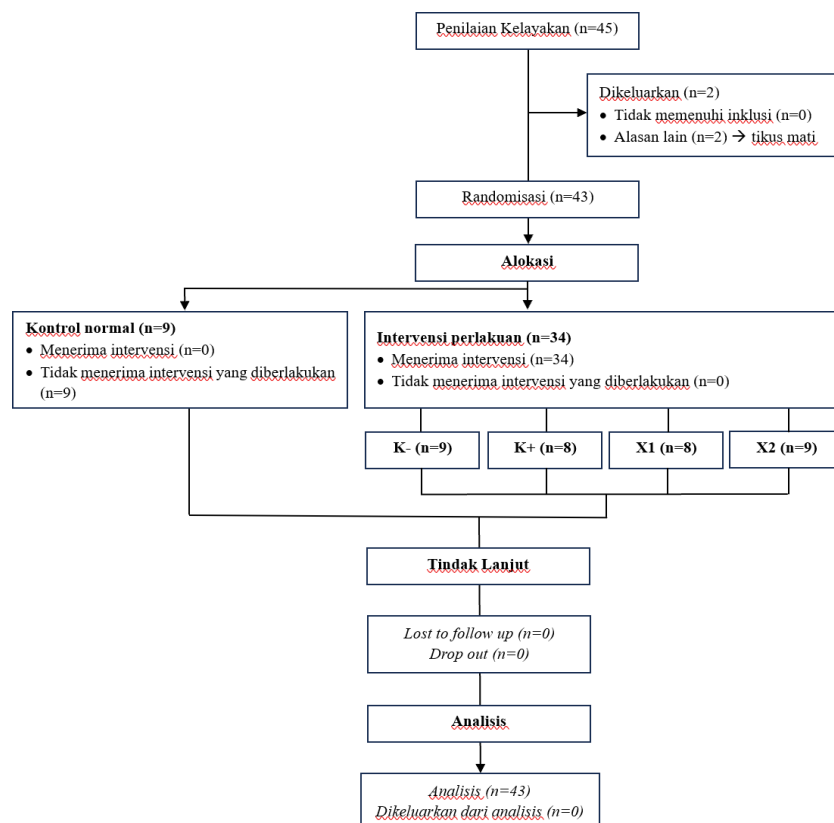
Implikasi etik pada hewan, pengelolaan binatang coba pada penelitian ini mengikuti *animal ethics*. Sebelum melakukan penelitian, telah didapatkan dengan “ No. 194/EC/KEPK/FK-UNDIP/VII/2025 dimintakan *ethical clearance* dari Komisi Etik Penelitian Kesehatan (KEPK) Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

BAB V

HASIL PENELITIAN

5.1 Karakteristik Data

Penelitian dilakukan terhadap 45 ekor tikus terbagi dalam 5 kelompok perlakuan. Pada akhir perlakuan jumlah tikus yang masuk dalam penelitian ini adalah 43 ekor, dilakukan terminasi, nekropsi, dan diambil jaringan kolonnya. Pemeriksaan ekspresi COX-2 dan IL-8 dari sampel jaringan kolon dilakukan pada seluruh tikus yang masuk dalam penelitian.



Gambar 14. Diagram Konsort Alur Penelitian

Keterangan :

Kn : Kelompok kontrol normal, mendapat pakan standar, tidak mendapat perlakuan.

K- : Kelompok kontrol negatif, mendapat pakan standar, tikus diinduksi 1,2 DMH.

K+ : Kelompok kontrol positif, mendapat pakan standar, tikus diinduksi 1,2 DMH, setelah timbul kanker, mendapat kemoterapi capecitabine.

X1 : Kelompok perlakuan 1, mendapat pakan standar, tikus diinduksi 1,2 DMH, setelah timbul kanker, mendapat ekstrak PNL.

X2 : Kelompok perlakuan 2, mendapat pakan standar, tikus diinduksi 1,2 DMH, setelah timbul kanker, mendapat kemoterapi capecitabine dan ekstrak PNL.

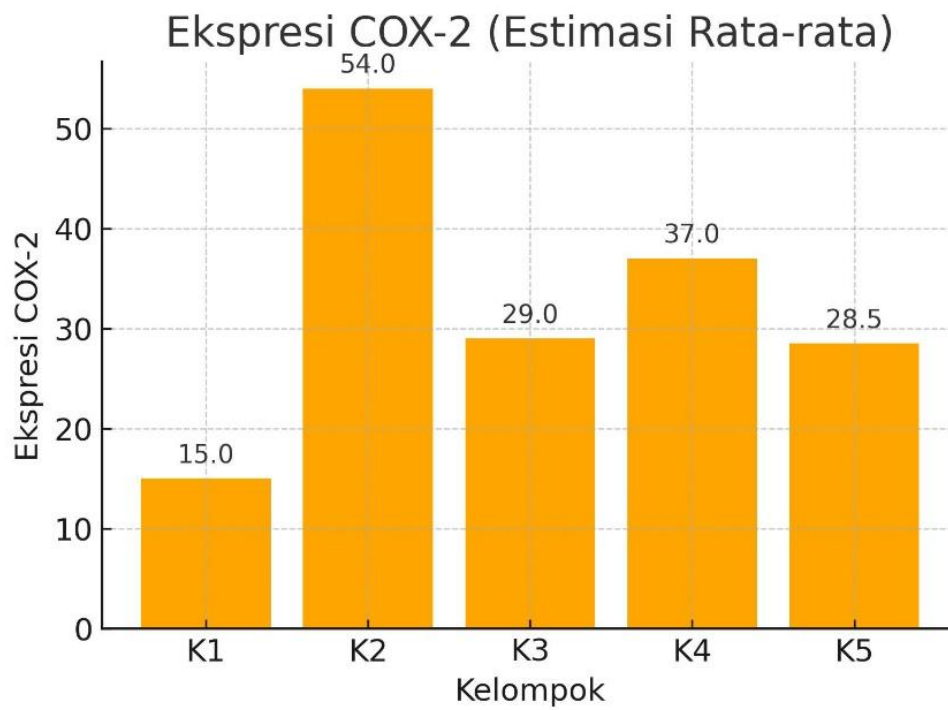
Jumlah sampel penelitian total sebesar 43 sampel, yang dibagi menjadi 5 kelompok, terdiri dari: 1.) Kontrol normal (Kn) sebesar 9 sampel (20,9%), 2.) Kontrol negatif (K-) sebesar 9 sampel (20,9%), 3.) Kontrol positif (K+) sebesar 8 sampel (18,6%), 4.) Perlakuan pertama (X1) sebesar 8 sampel (18,6%), dan 5.) Perlakuan kedua (X2) sebesar 9 sampel (20,9%). Semua sampel penelitian ini menggunakan tikus jantan strain Sprague-Dawley umur 2 bulan (6-7 minggu), dengan berat badan antara 170-220gr.

5.2 Pemeriksaan Ekspresi COX-2

Deskripsi data, uji normalitas dan analisis ekspresi COX-2 pada kelima kelompok terdapat pada tabel di bawah.

Tabel 3. Karakteristik Data Ekspresi COX-2 pada Tiap Kelompok Uji

Kelompok	COX-2			
	Rerata baku	$\pm$ simpang	Min – Max	Median
Kn (n= 9)	15,00 $\pm$ 3,63		10,63 – 20,65	14,22
K- (n= 9)	53,63 $\pm$ 8,13		44,39 – 65,35	52,65
K+ (n= 8)	29,02 $\pm$ 6,32		23,32 – 42,32	39,13
X1 (n= 8)	36,44 $\pm$ 7,16		24,36 – 45,32	26,35
X2 (n= 9)	27,91 $\pm$ 7,75		19,36 – 43,32	19,63



Gambar 15. Diagram ekspresi COX-2 perkelompok

Uji normalitas Shapiro-Wilk dari ekspresi COX-2 menunjukkan bahwa nilai p di semua kelompok $>0,05$, sehingga disimpulkan bahwa data terdistribusi normal.

Tabel 4. Uji Normalitas Ekspresi COX-2 pada Tiap Kelompok Uji

Kelompok	Saphiro-Wilk		
	Statistic	Df	p-value (Sig.)
Kn	0,92	9	0,43
K-	0,90	9	0,26
K+	0,82	8	0,05
X1	0,91	8	0,42
X2	0,90	9	0,29

Data yang terdistribusi normal dilanjutkan dengan uji ANOVA untuk melihat ada tidaknya perbedaan rerata di antara kelompok uji. Analisis data menunjukkan nilai $p=0,000$ ($\alpha = 0,05$, 95%CI) yang menunjukkan terdapat perbedaan rerata di antara kelompok tersebut. Uji parametrik lanjutan dilakukan dengan Tukey *Honestly Significant Difference* (HSD) untuk melihat kelompok yang memiliki perbedaan signifikan, didapatkan perbedaan bermakna pada kelompok Kn vs K- ($p=0,000$), Kn vs K+ ($p=0,001$), Kn vs X1 ($p=0,000$), Kn vs X2 ($p=0,002$), K- vs K+ ($p=0,000$), K- vs X1 ($p=0,000$), dan K- vs X2 ($p=0,000$). Nilai rerata ekspresi COX-2 pada kelompok terapi kombinasi (X2) lebih tinggi daripada kelompok lainnya.

Tabel 5. Uji *Post Hoc* Tukey HSD Ekspresi COX-2

Perbandingan Kelompok	Mean Difference	Sig. (<i>p-value</i>)*	95% CI (Lower–Upper)
Kn vs K-	-38,62	0.000*	- 47,79 – - 29,44
Kn vs K+	-14,01	0.001*	-23,46 – - 4,55
Kn vs X1	-21,43	0.000*	-30,89 – - 11,98
Kn vs X2	-12,90	0.002*	-22,07 – - 3,73
K- vs K+	38,62	0.000*	29,44 – 47,79
K- vs X1	24,61	0.000*	15,15 – 34,88
K- vs X2	17,18	0.000*	7,72 – 26,63
K+ vs X1	-7,42	0.207	-17,15 – 2,30
K+ vs X2	6,18	0.997	- 2,35 – 14,73
X1 vs X2	8,53	0.094	-0,92 – 17,98

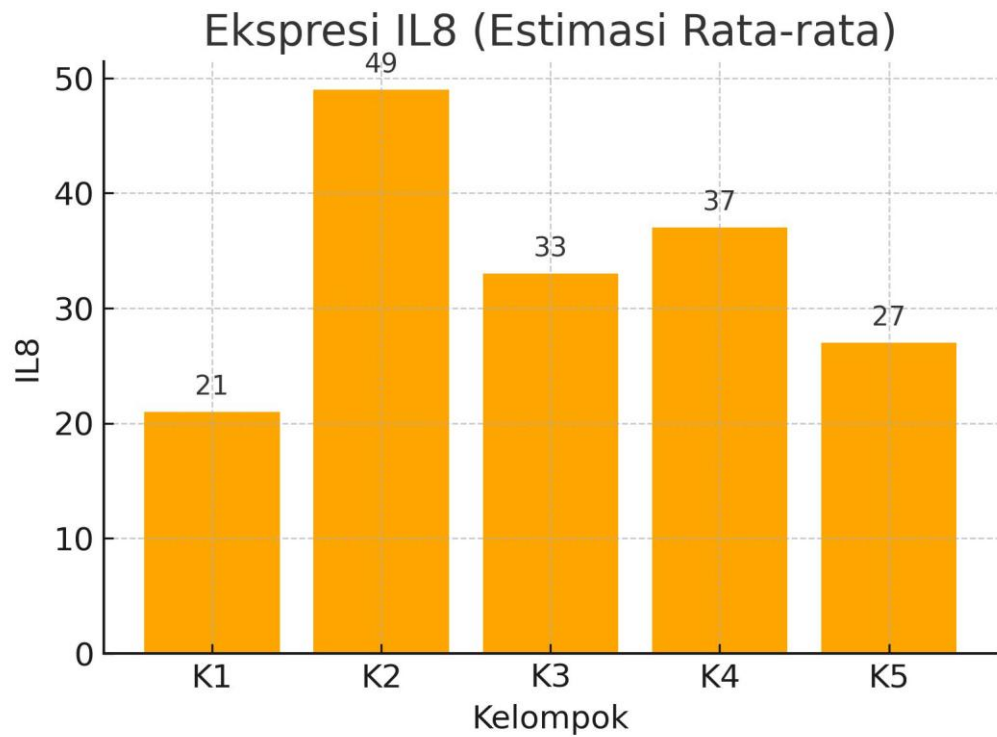
Tukey HSD, * $p < 0,05$ adalah signifikan

5.3 Pemeriksaan Ekspresi IL-8

Deskripsi data, uji normalitas dan analisis ekspresi IL-8 pada kelima kelompok terdapat pada tabel di bawah.

Tabel 6. Karakteristik Data Ekspresi IL-8 pada Tiap Kelompok Uji

Kelompok	IL-8		
	Rerata $\pm$ simpang baku	Min – Max	Median
Kn (n= 9)	20,76 $\pm$ 4,58	13, 22 – 29,34	26,35
K- (n= 9)	49,09 $\pm$ 6,77	39,63 – 62,34	49,63
K+ (n= 8)	32,27 $\pm$ 3,82	26,35 – 37,51	32,80
X1 (n= 8)	37,10 $\pm$ 6,84	26,22 – 43,85	40,48
X2 (n= 9)	26,08 $\pm$ 7,64	13,25 – 33,52	29,47



Gambar 16. Diagram ekspresi IL8 perkelompok

Uji normalitas Shapiro-Wilk dari ekspresi IL-8 menunjukkan bahwa nilai p di semua kelompok $>0,05$, sehingga disimpulkan bahwa data terdistribusi normal.

Tabel 7. Uji Normalitas Ekspresi IL-8 pada Tiap Kelompok Uji

Kelompok	Saphiro-Wilk		
	Statistic	Df	p-value (Sig.)
Kn	0,974	9	0,92
K-	0,952	9	0,70
K+	0,96	8	0,87
X1	0,85	8	0,10
X2	0,87	9	0,12

Analisis dilanjutkan dengan uji ANOVA dan hasil analisis menunjukkan nilai $p=0,000$ ($\alpha = 0,05$, 95%CI) yang menunjukkan terdapat perbedaan rerata di antara kelompok tersebut. Uji parametrik lanjutan Tukey HSD menunjukkan perbedaan bermakna pada semua kelompok uji, didapatkan perbedaan bermakna pada kelompok Kn vs K- ($p=0,000$), Kn vs K+ ($p=0,004$), Kn vs X1 ($p=0,000$), K- vs K+ ($p=0,000$), K- vs X1 ($p=0,000$), K- vs X2 ($p=0,000$), dan X1 vs X2 ($p=0,006$). Nilai rerata ekspresi COX-2 pada kelompok terapi kombinasi (X2) lebih tinggi daripada kelompok lainnya.

Tabel 8. Uji *Post Hoc* Tukey HSD Ekspresi IL-8

Perbandingan Kelompok	Mean Difference	Sig. (<i>p-value</i>)*	95% CI (Lower–Upper)
Kn vs K-	-28,32	0.000*	- 36,61 – - 20,03
Kn vs K+	-11,51	0.004*	-20,05 – - 2,96
Kn vs X1	- 16,33	0.000*	-24,88 – -7,79
Kn vs X2	-5,32	0.367	-13,61– 2,96
K- vs K+	16,81	0.000*	8,27 – 25,36
K- vs X1	11,98	0.002*	3,44 – 20,53
K- vs X2	23,00	0.000*	14,71 – 31,29
K+ vs X1	4,82	0.524	- 3,96 – 13,62
K+ vs X2	-6,18	0.252	-14,73 – 2,35
X1 vs X2	-11,01	0.006*	-19,56 – -2,47

Tukey HSD, * $p<0,05$ adalah signifikan

BAB VI

PEMBAHASAN

6.1 Inflamasi dan Biomarker pada Model Kanker Kolorektal

Peradangan memiliki peran yang signifikan dalam perkembangan kanker kolorektal, dengan COX-2 dan IL-8 sebagai biomarker utama untuk mengukur aktivitas pro-inflamasi dalam konteks ini. COX-2, yang terlibat dalam sintesis prostaglandin, memang telah terbukti dapat meningkatkan proliferasi sel kanker, dan IL-8 berfungsi sebagai kemokin yang menarik sel-sel imun ke lokasi tumor dan merangsang angiogenesis. Interaksi kompleks antara COX-2 dan IL-8 diyakini berkontribusi pada lingkungan mikro tumor yang mendukung pertumbuhan dan penyebaran kanker. Penelitian ini berfokus pada kedua biomarker untuk mendapatkan gambaran lebih komprehensif mengenai jalur inflamasi pada kanker kolorektal, memungkinkan untuk menilai efektivitas intervensi terapeutik dengan lebih baik. Jalur sinyal yang terlibat di dalamnya mencakup aktivasi NF- κ B yang menginduksi ekspresi COX-2 dan sitokin lain termasuk IL-8, yang pada gilirannya menciptakan siklus umpan balik positif yang memperburuk proses inflamasi.⁶⁰

Pada penelitian ini menggunakan DMH (1,2-dimetilhidrazin) sebagai karsinogen, zat ini diketahui dapat memicu inflamasi kronis yang berkontribusi pada pembentukan tumor. DMH bekerja dengan menghasilkan spesies oksigen reaktif yang dapat merusak DNA dan menginduksi peradangan. Hal ini dapat

dilihat dalam hasil penelitian, di mana kelompok kontrol negatif (K-) yang hanya mendapat DMH menunjukkan ekspresi COX-2 dan IL-8 tertinggi (masing-masing 54 dan 49). Keterkaitan antara paparan DMH dan peningkatan COX-2 serta IL-8 menciptakan status inflamasi yang menunjukkan bahwa peradangan kronis berpotensi meningkatkan risiko kanker kolorektal.

Dalam penelitian ini, kami juga mengevaluasi efek kombinasi dari kapecitabine dan ekstrak *Phyllanthus niruri* Linn dibandingkan dengan penggunaan masing-masing agen secara terpisah. Kapecitabine sebagai agen kemoterapi telah terbukti dapat menurunkan ekspresi COX-2 dan IL-8. Sedangkan *Phyllanthus niruri* dikenal memiliki aktivitas anti-inflamasi dan antikanker yang signifikan. Kombinasi keduanya diharapkan dapat memberikan efek sinergis, mengurangi kedua biomarker tersebut lebih efektif daripada monoterapi, sehingga berpotensi menurunkan beban inflamasi dan menghambat progresi kanker kolorektal. Dengan demikian, penelitian ini dapat memberikan wawasan tentang strategi kombinasi yang lebih baik dalam pengobatan kanker kolorektal.⁶¹

6.2 Ekspresi COX-2

Cyclooxygenase-2 (COX-2) merupakan isoenzim yang diinduksi oleh rangsang inflamasi dan onkogenik, berperan mengubah asam arakidonat menjadi prostaglandin E₂ (PGE₂). PGE₂ kemudian berikatan dengan reseptor EP pada permukaan sel, memicu lintasan proliferasi, angiogenesis, migrasi/invasi, serta resistensi apoptosis pada kanker kolorektal. Ulasan

mutakhir menegaskan bahwa aktivitas COX-2 dan PGE₂ di jaringan tumor bukan hanya mendorong progresi penyakit, tetapi juga menginterferensi kontrol imun antitumor, bahkan berinteraksi sinergis dengan pensinyalan reseptor faktor pertumbuhan epidermal (EGFR). Oleh karena itu, lintasan ini dipandang tepat sebagai sasaran terapeutik maupun ajuvan pada kanker kolorektal.^{62,62}

Pada model karsinogenesis yang dipicu 1,2-dimetilhidrazin (DMH), hasil penelitian ini menunjukkan adanya variasi ekspresi COX-2 antar kelompok perlakuan. Kelompok kanker tanpa terapi menampilkan ekspresi COX-2 paling tinggi (rerata skor imunohistokimia $53,63 \pm 8,13$), sedangkan intervensi kemoterapi capecitabine menunjukkan penurunan signifikan ($p < 0,05$). Lebih lanjut, kombinasi capecitabine dengan ekstrak *Phyllanthus niruri* Linn (PNL) juga memperlihatkan penurunan ekspresi COX-2 yang sebanding dengan terapi tunggal. Sebagai pembanding, kelompok normal (tanpa induksi DMH) menunjukkan ekspresi COX-2 yang paling rendah dan berbeda bermakna dengan kelompok kanker tanpa terapi.

Pola ini konsisten dengan sifat DMH sebagai prokarsinogen kolon yang menimbulkan alkilasi DNA, stres oksidatif, dan peradangan, sehingga keadaan tanpa terapi memunculkan milieu pro-prostaglandin yang dominan. Sebaliknya, pemberian terapi menekan sumber mediator dan sinyal hulu yang menginduksi COX-2. Capecitabine berperan menurunkan beban sel tumor yang aktif mensintesis mediator inflamasi, sedangkan komponen fitokimia PNL menghambat aktivasi transkripsi inflamasi (misalnya NF- κ B)

yang diketahui mengatur induksi COX-2. Dengan demikian, kombinasi keduanya menggeser lingkungan mikro tumor dari keadaan pro-inflamasi menuju kondisi yang lebih terkontrol.⁶³

Implikasi ilmiah dari temuan ini adalah bahwa penekanan COX-2 berpotensi mengurangi proliferasi dan angiogenesis sekaligus memperbaiki respons imun antitumor. Selain itu, hasil yang setara antara capecitabine tunggal dan kombinasi dengan PNL menandakan bahwa penambahan PNL tidak mengurangi efektivitas sitotoksik capecitabine. Optimalisasi dosis, durasi, atau urutan pemberian kombinasi layak dievaluasi pada studi lanjutan untuk menangkap potensi manfaat tambahan yang mungkin tidak sepenuhnya terlihat akibat variabilitas biologis.⁶²

6.3 Ekspresi IL-8

Interleukin-8 (IL-8 atau CXCL8) merupakan kemokin pro-inflamasi yang diproduksi sel epitel, stroma, imun, dan sel kanker, berperan memediasi kemotaksis neutrofil, memfasilitasi migrasi/invasi sel tumor, dan memacu angiogenesis melalui reseptor CXCR1/2. Bukti sistematis dan meta-analisis pada kanker kolorektal menunjukkan bahwa kadar IL-8 yang tinggi berkorelasi dengan keberlangsungan hidup total dan progresi yang lebih buruk, sehingga penurunan IL-8 dapat dibaca sebagai sinyal biologis yang menguntungkan pada upaya pengendalian agresivitas tumor.⁶⁵

Dalam penelitian ini, kelompok kanker tanpa terapi menampilkan ekspresi IL-8 paling tinggi (rerata skor imunohistokimia $49,09 \pm 6,77$).

Intervensi dengan capecitabine tunggal menekan ekspresi IL-8 secara signifikan ($p < 0,05$ dibanding kontrol kanker), sedangkan PNL tunggal memberikan efek penurunan yang lebih ringan. Kombinasi capecitabine dan PNL menurunkan IL-8 lebih jauh dibanding PNL tunggal, menghasilkan tingkat yang setara dengan capecitabine, bahkan mendekati ekspresi kelompok normal. Hal ini menunjukkan bahwa kemoterapi tetap menjadi faktor dominan, tetapi penambahan PNL tidak menurunkan efek sitotoksik capecitabine.

Interpretasi biologis dari pola tersebut adalah adanya pertemuan dua mekanisme; berkurangnya beban tumor akibat capecitabine yang menekan produksi mediator pro-inflamasi, serta inhibisi sinyal transkripsi pro-inflamasi (misalnya NF- κ B dan STAT3) oleh komponen bioaktif PNL, yang turut menekan produksi kemokin pro-angiogenik. Kombinasi keduanya menyebabkan produksi IL-8 lebih terkendali. Hal ini penting bukan hanya untuk mengendalikan mikro-lingkungan pro-angiogenik tumor, tetapi juga untuk menurunkan potensi resistensi angiogenik yang sering muncul ketika jalur VEGF saja ditekan.⁶⁶

Implikasi klinik-praklinik dari profil tersebut adalah bahwa penambahan PNL tampak mampu menormalkan mediator pro-angiogenik tanpa mengurangi efek kemoterapi, sehingga IL-8 layak dipertimbangkan sebagai penanda farmakodinamik pada penelitian translasi berikutnya, baik untuk pemilihan regimen maupun pemantauan respons dini.⁶⁵

6.4 Mekanisme Aksi Terapi

Temuan penelitian ini memperlihatkan bahwa ekspresi COX-2 dan IL-8 menurun pada kelompok intervensi dibanding kontrol negatif, baik melalui pemberian capecitabine maupun ekstrak *Phyllanthus niruri* Linn (PNL), dengan efek paling konsisten terlihat pada kelompok kombinasi. Pola tersebut dapat dijelaskan melalui mekanisme aksi biologis kedua agen yang saling melengkapi.

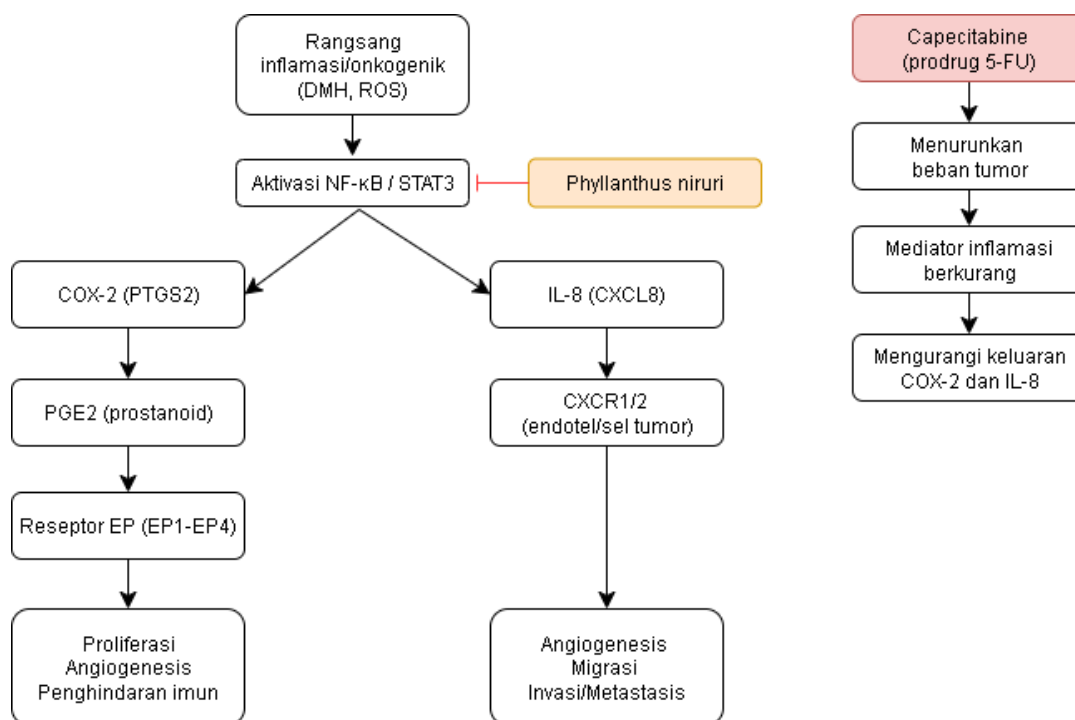
Capecitabine merupakan prodrug 5-fluorourasil (5-FU) yang bekerja dengan menghambat sintesis DNA dan RNA pada sel yang aktif membelah. Efek sitotoksik ini menurunkan jumlah sel kanker yang menjadi sumber utama mediator inflamasi. Selain itu, pada model praklinis dilaporkan bahwa 5-FU juga menekan populasi myeloid-derived suppressor cells (MDSCs), suatu sel imun immunosupresif, sehingga memberi ruang bagi peningkatan aktivitas efektor sel T sitotoksik. Hal ini sejalan dengan temuan penelitian, di mana kelompok capecitabine (K⁺) menunjukkan penurunan bermakna COX-2 (rerata 29 vs 54 pada K⁻) dan IL-8 (33 vs 49 pada K⁻).^{67,68}

Phyllanthus (termasuk *Phyllanthus niruri*) mengandung mengandung lignan dan flavonoid seperti phyllanthin dan hypophyllanthin yang memiliki aktivitas anti-inflamasi multi-target. Mekanismenya antara lain melalui penekanan aktivasi NF- κ B, sehingga menurunkan ekspresi gen pro-inflamasi termasuk iNOS, COX-2, dan kemokin seperti IL-8. Selain itu, komponen bioaktif PNL mendukung apoptosis sel kanker dan mengurangi stres oksidatif. Pada penelitian ini, kelompok PNL tunggal (X1) menunjukkan

penurunan COX-2 (37) dan IL-8 (37), meskipun tidak seefektif capecitabine, menandakan bahwa efek PNL lebih berperan pada level regulasi transkripsi daripada pengurangan beban tumor.^{69,70}

Kombinasi capecitabine dan PNL menghasilkan modulasi ganda: kemoterapi menekan populasi sel penghasil mediator inflamasi, sementara fitokimia PNL menghentikan aktivasi jalur transkripsi inflamasi. Mekanisme ini menjelaskan temuan bahwa kelompok kombinasi (X2) menunjukkan ekspresi COX-2 (28) dan IL-8 (27) yang lebih rendah dibanding PNL tunggal dan mendekati hasil terapi capecitabine, meskipun tidak selalu signifikan antar-kelompok. Efek ini menandai adanya kerja paralel yang saling melengkapi.^{62,69}

Model karsinogenesis kolon yang diinduksi DMH (1,2-dimetilhidrazin) menyediakan konteks biologis yang konsisten dengan hasil tersebut. DMH menimbulkan alkilasi DNA, stres oksidatif, dan inflamasi mukosa yang meningkatkan ekspresi COX-2 dan IL-8, sehingga kontrol negatif (K^-) memperlihatkan ekspresi tertinggi. Intervensi yang mampu menurunkan baik beban tumor maupun induksi transkripsi pro-inflamasi secara logis menghasilkan perbaikan biomarker inflamasi yang diamati.^{71,72}



Gambar 17. Skema modulasi jalur COX-2 dan IL-8 pada kanker kolorektal.

Integrasi temuan ini dengan telaah tentang kerja sama PGE2 dan reseptor faktor pertumbuhan epidermal menyiratkan bahwa penurunan COX-2 pada kombinasi tidak hanya mengurangi prostanoid pro-tumor, tetapi juga berpotensi melemahkan lingkaran umpan balik yang memperkuat sinyal pertumbuhan, sehingga lingkungan mikro tumor bergeser menuju kondisi yang kurang mendukung proliferasi dan angiogenesis^{73.74}

6.5 Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini memiliki keterbatasan daya uji karena variabilitas biologis model hewan cukup tinggi, sehingga beberapa perbandingan terhadap kemoterapi tunggal belum mencapai signifikansi statistik meskipun arah efeknya konsisten.⁶²

Penelitian ini membatasi penilaian pada dua penanda hilir (COX-2 dan IL-8) dalam model karsinogenesis DMH pada tikus, sehingga lintasan kausal hulu–hilir (misalnya NF- κ B/STAT3, PGE₂/VEGF) dan relevansi translasional ke manusia belum dapat dipastikan tanpa studi lanjutan yang menambahkan panel biomarker mekanistik serta validasi toksikologi dan klinis.⁶⁴

BAB VII

SIMPULAN

7.1 Simpulan

1. Pada ekspresi COX-2, terdapat penurunan bermakna kelompok kombinasi (X2) dibandingkan kelompok kontrol negative, terdapat peningkatan bermakna kelompok kombinasi (X2) dibandingkan kelompok kontrol netral, namun tidak terdapat perbedaan bermakna kelompok kombinasi (X2) dibandingkan kelompok kontrol positif maupun kelompok yang mendapat ekstrak *Phyllanthus niruri* Linn (X1).
2. Pada ekspresi IL-8, terdapat penurunan bermakna kelompok kombinasi (X2) dibandingkan kelompok kontrol negative dan kelompok yang mendapat ekstrak *Phyllanthus niruri* Linn (X1), namun tidak terdapat perbedaan bermakna kelompok kombinasi (X2) dibandingkan kelompok kontrol netral maupun kelompok kontrol positif.

7.2 Saran

1. Penelitian lanjutan perlu meningkatkan daya uji dengan perhitungan power a priori serta menguji optimasi regimen kombinasi (dosis, durasi, dan urutan pemberian capecitabine–*Phyllanthus niruri*)

disertai uji toksikologi sub-kronik, sehingga profil kemanjuran dan keamanan lebih meyakinkan sebelum tahap translasional

DAFTAR PUSTAKA

1. Roshandel G, Ghasemi-Kebria F, Malekzadeh R. Colorectal Cancer: Epidemiology, Risk Factors, and Prevention. *Cancers (Basel)*. 2024 Apr 17;16(8):1530.
2. Yusmaidi, Oktobiannobel J, Nur M, Bella Sabila Dananda. Derajat Toksisitas Hemoglobin Pada Penderita Kanker Kolorektal Yang Mendapat Kemoterapi CapeOX. *ARTERI: Jurnal Ilmu Kesehatan*. 2020 Aug 31;1(4):299–305.
3. Hossain MdS, Karuniawati H, Jairoun AA, Urbi Z, Ooi DJ, John A, et al. Colorectal Cancer: A Review of Carcinogenesis, Global Epidemiology, Current Challenges, Risk Factors, Preventive and Treatment Strategies. *Cancers (Basel)*. 2022 Mar 29;14(7):1732.
4. Lim KG, Lee CS, Chin DHJ, Ooi YS, Veettil SK, Ching SM, et al. Clinical characteristics and predictors of 5-year survival among colorectal cancer patients in a tertiary hospital in Malaysia. *J Gastrointest Oncol*. 2020 Apr;11(2):250–9.
5. Peng H, Ye T, Deng L, Yang X, Jiang Z, Guo J. Sequential Treatment with Activin and Hepatocyte Growth Factor Induces FOXM1 to Promote Colorectal Cancer Liver Metastasis. *Can J Gastroenterol Hepatol*. 2022 Dec 23;2022:1–15.
6. Brown KGM, Koh CE. Surgical management of recurrent colon cancer. *J Gastrointest Oncol*. 2020 Jun;11(3):513–25.
7. Illian DN, Hafiz I, Meila O, Utomo ARH, Nuryawan A, Siregar GA, et al. Current Status, Distribution, and Future Directions of Natural Products against Colorectal Cancer in Indonesia: A Systematic Review. *Molecules*. 2021 Aug 17;26(16):4984.
8. Schmitt M, Greten FR. The inflammatory pathogenesis of colorectal cancer. *Nat Rev Immunol*. 2021 Oct 28;21(10):653–67.

9. Lichtenstern CR, Ngu RK, Shalapour S, Karin M. Immunotherapy, Inflammation and Colorectal Cancer. *Cells*. 2020 Mar 4;9(3):618.
10. O’Sullivan DE, Sutherland RL, Town S, Chow K, Fan J, Forbes N, et al. Risk Factors for Early-Onset Colorectal Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2022 Jun;20(6):1229-1240.e5.
11. Sheng J, Sun H, Yu FB, Li B, Zhang Y, Zhu YT. The Role of Cyclooxygenase-2 in Colorectal Cancer. *Int J Med Sci*. 2020;17(8):1095–101.
12. Purnama A, Lukman K, Rudiman R, Prasetyo D, Fuadah Y, Nugraha P, et al. The prognostic value of COX-2 in predicting metastasis of patients with colorectal cancer: A systematic review and meta analysis. *Heliyon*. 2023 Oct;9(10):e21051.
13. Kasprzak A. The Role of Tumor Microenvironment Cells in Colorectal Cancer (CRC) Cachexia. *Int J Mol Sci*. 2021 Feb 4;22(4):1565.
14. Bazzichetto C, Milella M, Zampiva I, Simionato F, Amoreo CA, Buglioni S, et al. Interleukin-8 in Colorectal Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis of Its Potential Role as a Prognostic Biomarker. *Biomedicines*. 2022 Oct 19;10(10):2631.
15. Lusikoy R, Lukman K, Jeo WS, Rochanan AH, Riwanto I, Syafei I, et al. *Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran Tata Laksana Kanker Kolorektal*. 1st ed. Basir I, Rudiman R, Gondhowiardjo S, Giselvania A, Widodo NH, Nasution WN, et al., editors. Jakarta : Kementerian Kesehatan Republik Indonesia; 2019.
16. Yuan Z, Weng S, Ye C, Hu H, Zhang S, Yuan Y. CSCO guidelines for colorectal cancer version 2022: Updates and discussions. *Chinese Journal of Cancer Research*. 2022;34(2):67–70.
17. Alzahrani S, Al Doghaither H, Al-ghafari A, Pushparaj P. 5-Fluorouracil and capecitabine therapies for the treatment of colorectal cancer (Review). *Oncol Rep*. 2023 Aug 7;50(4):175.

18. Alqahtani S, Alzaidi R, Alsultan A, Asiri A, Asiri Y, Alsaleh K. Clinical pharmacokinetics of capecitabine and its metabolites in colorectal cancer patients. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2022 May;30(5):527–31.
19. Lu Y, Huang Y, Huang L, Xu Y, Wang Z, Li H, et al. CD16 expression on neutrophils predicts treatment efficacy of capecitabine in colorectal cancer patients. *BMC Immunol*. 2020 Dec 8;21(1):46.
20. Jiang H, Jiang Y, Yang B, Long F, Yang Z, Tang D. Traditional Chinese medicines and capecitabine-based chemotherapy for colorectal cancer treatment: A meta-analysis. *Cancer Med*. 2023 Jan;12(1):236–55.
21. Abdel-Sattar OE, Allam RM, Al-Abd AM, Avula B, Katragunta K, Khan IA, et al. Cytotoxic and chemomodulatory effects of *Phyllanthus niruri* in MCF-7 and MCF-7ADR breast cancer cells. *Sci Rep*. 2023 Feb 15;13(1):2683.
22. Maheshika Dahanayake J, Kamal Perera P, Galappaththy P, Arawwawala M. A mini-review on therapeutic potentials of *Phyllanthus niruri* Linn. *Trends in Phytochemical Research (TPR) Trends Phytochem Res*. 2020;4(3):2020–101.
23. Hermansyah D, Munir D, Lelo A, Putra A, Amalina ND, Alif I. The Synergistic Antitumor Effects of *Curcuma longa* and *Phyllanthus niruri* Extracts on Promoting Apoptotic Pathways in Breast Cancer Stem Cells. *The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2022 Nov 1;46(5):541–50.
24. Ibrahim S, Hidayah N, Novita F, Rifai P, Ginanto D. Cooperative Impact of *Curcuma longa* and *Phyllanthus niruri* Extracts on Cytotoxicity in HCT-116 Cells. Vol. 2, *International Journal of Cell and Biomedical Science*. 2023.
25. Tendean M, Riwanto I. The Effects of *Phyllanthus niruri* Linn on Infiltrating Dendritic Cell and Ratio of Neutrophile/Lymphocytes in Chemotherapy of Sprague-Dawley Rats with Colorectal Cancer. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 2021 Nov 1;22(11):3561–8.
26. Sawitri E, Riwanto I, Tjahjono T, Dharmana E. Pengaruh Pemberian Ekstrak *Phyllanthus niruri* Linn Terhadap Infiltrasi Limfosit dan Ekspresi Perforin pada Kanker Kolon Tikus Sprague-Dawley. *Media Medika Indonesiana*. 2013;47(1).

27. Jeje TO, Onodugo CA, Oladipo GO, Ibukun EO, Umoh U. Anti-inflammatory Assessment of the Aqueous Extract of *Phyllanthus niruri* in Wistar Rats. FJPAS [Internet]. 2024;9(2). Available from: <https://fjpas.fuoye.edu.ng>
28. Budi Sawitri S, Fitrian A, Fadholah A, Rahma Kumala N. ANTINFLAMMATORY ACTIVITY OF FLAVONOID COMPOUNDS FROM MENIRAN HERBA EXTRACT (*Phyllanthus niruri* L.) USING THE CELL MEMBRANE STABILITY BY IN VITRO METHODS. JIGF [Internet]. 2024;34(42):2987–4742. Available from: <http://jurnal.iaisragen.org/index.php/jigf>
29. Sawicki T, Ruszkowska M, Danielewicz A, Niedźwiedzka E, Arłukowicz T, Przybyłowicz KE. A Review of Colorectal Cancer in Terms of Epidemiology, Risk Factors, Development, Symptoms and Diagnosis. *Cancers* (Basel). 2021 Apr 22;13(9):2025.
30. Deo SVS, Kumar S, Bhorwal S, Shukla NK, Sharma A, Thulkar S, et al. Colorectal Cancers in Low- and Middle-Income Countries—Demographic Pattern and Clinical Profile of 970 Patients Treated at a Tertiary Care Cancer Center in India. *JCO Glob Oncol*. 2021 Dec;(7):1110–5.
31. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Parkin DM, Piñeros M, Znaor A, et al. Cancer statistics for the year 2020: An overview. *Int J Cancer*. 2021 Aug 15;149(4):778–89.
32. Duggan MA, Anderson WF, Altekruse S, Penberthy L, Sherman ME. The Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program and Pathology. *American Journal of Surgical Pathology*. 2016 Dec;40(12):e94–102.
33. American Cancer Society. *Colorectal Cancer Facts & Figures 2017-2019*. Atlanta : American Cancer Society; 2017.
34. Gonzalez-Gutierrez L, Motiño O, Barriuso D, de la Puente-Aldea J, Alvarez-Frutos L, Kroemer G, et al. Obesity-Associated Colorectal Cancer. *Int J Mol Sci*. 2024 Aug 14;25(16):8836.

35. Zhou X, Wang L, Xiao J, Sun J, Yu L, Zhang H, et al. Alcohol consumption, <scp>DNA</scp> methylation and colorectal cancer risk: Results from pooled cohort studies and Mendelian randomization analysis. *Int J Cancer*. 2022 Jul 31;151(1):83–94.
36. Lin TC, Chien WC, Hu JM, Tzeng NS, Chung CH, Pu TW, et al. Risk of colorectal cancer in patients with alcoholism: A nationwide, population-based nested case-control study. *PLoS One*. 2020 May 12;15(5):e0232740.
37. Aykan NF. Red meat and colorectal cancer. *Oncol Rev*. 2015 Dec 28;
38. Bradbury KE, Murphy N, Key TJ. Diet and colorectal cancer in UK Biobank: a prospective study. *Int J Epidemiol*. 2020 Feb 1;49(1):246–58.
39. Samadder NJ, Jasperson K, Burt RW. Hereditary and Common Familial Colorectal Cancer: Evidence for Colorectal Screening. *Dig Dis Sci*. 2015 Mar 12;60(3):734–47.
40. Wong MCS, Huang J, Lok V, Wang J, Fung F, Ding H, et al. Differences in Incidence and Mortality Trends of Colorectal Cancer Worldwide Based on Sex, Age, and Anatomic Location. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2021 May;19(5):955-966.e61.
41. Demb J, Earles A, Martínez ME, Bustamante R, Bryant AK, Murphy JD, et al. Risk factors for colorectal cancer significantly vary by anatomic site. *BMJ Open Gastroenterol*. 2019 Aug 24;6(1):e000313.
42. Gausman V, Dornblaser D, Anand S, Hayes RB, O’Connell K, Du M, et al. Risk Factors Associated With Early-Onset Colorectal Cancer. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2020 Nov;18(12):2752-2759.e2.
43. Y Peterson C. Risk Factors for Colorectal Cancer. *MOJ Surgery*. 2015 Apr 4;2(2).
44. Mahmoud NN. Colorectal Cancer. *Surg Oncol Clin N Am*. 2022 Apr;31(2):127–41.
45. Shinji S, Yamada T, Matsuda A, Sonoda H, Ohta R, Iwai T, et al. Recent Advances in the Treatment of Colorectal Cancer: A Review. *Journal of Nippon Medical School*. 2022 Jun 25;89(3):JNMS.2022_89-310.

46. Sawicki T, Ruszkowska M, Danielewicz A, Niedźwiedzka E, Arłukowicz T, Przybyłowicz KE. A review of colorectal cancer in terms of epidemiology, risk factors, development, symptoms and diagnosis. Vol. 13, Cancers. MDPI AG; 2021.
47. Vanave AM. Capecitabine: A Promising Anticancer Drug. Journal of Pharma Insights and Research. 2023;
48. Zhang S, Wang Z, Fan S, Liu T, Yoshida S, Yang S, et al. Capecitabine Can Induce T Cell Apoptosis: A Potential Immunosuppressive Agent With Anti-Cancer Effect. Front Immunol. 2021 Sep 7;12.
49. Huang L xia, Zhong M yu, Dan D, Yang X mei, Qiu H, Guo P. Combination of capecitabine and ludartin inhibits colon cancer growth in mice. Tropical Journal of Pharmaceutical Research. 2018 Jan 3;16(11):2623.
50. Sim JJ, Park MH, Baek JH, Lee H, Jeong KY, Kim HM. Investigation into Enhancing Capecitabine Efficacy in Colorectal Cancer by Inhibiting Focal Adhesion Kinase Signaling. Anticancer Res. 2018 Aug 30;38(8):4667–76.
51. Gigola G, Carriere P, Novoa Díaz MB, Perdigon G, Zwenger AO, Gentili C. Survival effect of probiotics in a rat model of colorectal cancer treated with capecitabine. World J Gastrointest Oncol. 2021 Oct 15;13(10):1518–31.
52. Zafar SY, Hirsch. Capecitabine in the management of colorectal cancer. Cancer Manag Res. 2011 Mar;79.
53. Lee NYS, Khoo WKS, Adnan MA, Mahalingam TP, Fernandez AR, Jeevaratnam K. The pharmacological potential of *Phyllanthus niruri*. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2016 Aug 1;68(8):953–69.
54. Abdel-Sattar OE, Allam RM, Al-Abd AM, Avula B, Katragunta K, Khan IA, et al. Cytotoxic and chemomodulatory effects of *Phyllanthus niruri* in MCF-7 and MCF-7ADR breast cancer cells. Sci Rep. 2023 Feb 15;13(1):2683.
55. Zhao T, Sun Q, Marques M, Witcher M. Anticancer Properties of *Phyllanthus emblica* (Indian Gooseberry). Oxid Med Cell Longev. 2015;2015:1–7.
56. Tang YQ, Jaganath IB, Sekaran SD. *Phyllanthus* spp. Induces Selective Growth Inhibition of PC-3 and MeWo Human Cancer Cells through

- Modulation of Cell Cycle and Induction of Apoptosis. PLoS One. 2010 Sep 8;5(9):e12644.
57. Eze CO, Nworu CS, Esimone CO, Okore VC. Immunomodulatory activities of methanol extract of the whole aerial part of *Phyllanthus niruri* L. Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy. 2014;6(4):41–6.
 58. Tan WCC, Nerurkar SN, Cai HY, Ng HHM, Wu D, Wee YTF, et al. Overview of multiplex immunohistochemistry/immunofluorescence techniques in the era of cancer immunotherapy. Cancer Commun. 2020 Apr 17;40(4):135–53.
 59. Zhou X, Yang M, Liu Z, Li P, Xie B, Peng C. Dynamic allometric scaling of tree biomass and size. Nat Plants. 2021 Jan 4;7(1):42–9.
 60. Zhang R. , Wu X. , Lu S. , Pan Z. , Wan D. , & Chen G.. The effect of cox-2 inhibitor on capecitabine-induced hand–foot syndrome in patients with stage ii/iii colorectal cancer: a phase ii randomized prospective study. Journal of Cancer Research and Clinical Oncology 2010;137(6):953-957.
<https://doi.org/10.1007/s00432-010-0958-9>
 61. Adrianto AA, Riwanto I, Sadhana U, Paramita DK, Susantod HS, Tjandra KC, et al. Eradication of colorectal cancer stem cells through *Phyllanthus niruri* Linn extract induction: Expression of TLR-4, NF-κB, and CTL in Sprague-Dawley rats treated with capecitabine chemotherapy. J Med Pharm Chem Res. 2026;8:1073-91.
 62. Jin K, Qian C, Lin J, Liu B. Cyclooxygenase-2-Prostaglandin E2 pathway: A key player in tumor-associated immune cells. Front Oncol. 2023 Jan 27;13.
 63. Finetti F, Paradisi L, Bernardi C, Pannini M, Trabalzini L. Cooperation between Prostaglandin E2 and Epidermal Growth Factor Receptor in Cancer Progression: A Dual Target for Cancer Therapy. Cancers (Basel). 2023 Apr 19;15(8):2374.
 64. Venkatachalam K, Vinayagam R, Arokia Vijaya Anand M, Isa NM, Ponnaiyan R. Biochemical and molecular aspects of 1,2-dimethylhydrazine

- (DMH)-induced colon carcinogenesis: a review. *Toxicol Res (Camb)*. 2020 Apr 24;9(1):2–18.
65. Bazzichetto C, Milella M, Zampiva I, Simionato F, Amoreo CA, Buglioni S, et al. Interleukin-8 in Colorectal Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis of Its Potential Role as a Prognostic Biomarker. *Biomedicines*. 2022 Oct 19;10(10):2631.
 66. Zou D, Song A, Yong W. Prognostic role of IL-8 in cancer patients treated with immune checkpoint inhibitors: a system review and meta-analysis. *Front Oncol*. 2023 Aug 9;13.
 67. Vincent J, Mignot G, Chalmin F, Ladoire S, Bruchard M, Chevriaux A, et al. 5-Fluorouracil Selectively Kills Tumor-Associated Myeloid-Derived Suppressor Cells Resulting in Enhanced T Cell–Dependent Antitumor Immunity. *Cancer Res*. 2010 Apr 15;70(8):3052–61.
 68. Ramezani-Aliakbari K, Jalali SA, Alinejad M, Jeddi-Tehrani M, Shabani M. 5-Fluorouracil Effectively Depletes Tumor Induced Myeloid Derived Suppressor Cells in 4T1 Mammary Carcinoma Model. *Avicenna J Med Biotechnol*. 2024 Oct 19;
 69. Bhattacharyya J, Saikia L, Kalita V, Dutta PP. An Updated Review on the Anti-Inflammatory Potential of *Phyllanthus* Genus. *Chem Biodivers*. 2025 May 14;
 70. Bhattacharyya J, Saikia L, Kalita V, Dutta PP. An Updated Review on the Anti-Inflammatory Potential of *Phyllanthus* Genus. *Chem Biodivers*. 2025 May 14;
 71. Wan Saidin WA, Jantan I, Abdul Wahab SM, Jalil J, Mohd Said M, Yusoff SD, et al. Pharmacological activities and mechanisms of action of hypophyllanthin: A review. *Front Pharmacol*. 2023 Jan 9;13.
 72. Geethangili M, Ding ST. A Review of the Phytochemistry and Pharmacology of *Phyllanthus urinaria* L. *Front Pharmacol*. 2018 Oct 1;9.
 73. Jantan I, Haque MdA, Ilangkovan M, Arshad L. An Insight Into the Modulatory Effects and Mechanisms of Action of *Phyllanthus* Species and

Their Bioactive Metabolites on the Immune System. *Front Pharmacol*. 2019 Aug 7;10.

74. Li Y, Qiao K, Zhang X, Liu H, Zhang H, Li Z, et al. Targeting myeloid-derived suppressor cells to attenuate vasculogenic mimicry and synergistically enhance the anti-tumor effect of PD-1 inhibitor. *iScience*. 2021 Dec;24(12):103392.

LAMPIRAN

Lampiran 1 Teknik Euthanasia dan Nekropsi

Setelah masa pemberian obat berakhir pada minggu ke-22, tikus-tikus dikorbankan. Mereka dianestesi dengan kombinasi ketamin (100 mg/kg BB) dan xylazine (10 mg/kg BB) yang disuntikkan secara intramuskular, lalu dilakukan dekapitasi. Tikus-tikus ini ditempatkan dalam posisi terlentang dengan kaki lurus. Area ventral hingga inguinal tubuh tikus didesinfeksi menggunakan alkohol 70%. Sayatan dibuat pada garis tengah dari xiphoid processes hingga pecten ossis pubis untuk mengekspos rongga intra-abdominal. Usus besar dipotong melintang 0,5 cm dari batas atas rektum sepanjang 0,5 cm, dicuci dengan PBS, dan langsung dimasukkan ke dalam formalin buffer 10% untuk uji histopatologi (imunohistokimia).

Lampiran 2 Teknik Pembuatan Blok Parafin

Jaringan kolon yang akan diuji histopatologi dimasukkan ke dalam formalin buffer 10%. Setelah 24 jam, jaringan tersebut diproses menjadi jaringan FFPE (*formalin-fixed paraffin-embedded*). Sediaan didehidrasi dengan serangkaian etanol 70%, 80%, 90%, 95%, dan 100% selama 15 menit, masing-masing sebanyak 3 kali. *Pre-clearing* dilakukan dengan merendam sampel dalam campuran toluen-alkohol (1:1) selama 15 menit, diikuti dengan clearing menggunakan toluen murni

selama 30 menit. Jaringan yang sudah transparan dikeringkan dengan tisu kertas dan direndam dalam toluen jenuh semalaman. Sementara itu, cetakan embedding disiapkan dan didiamkan semalaman dalam kulkas. Jaringan dari toluen jenuh kemudian dilakukan infiltrasi dengan parafin cair menggunakan botol kecil bening. Saat proses infiltrasi hampir selesai, cetakan diisi parafin cair hingga setengah tinggi cetakan. Jaringan kolon diposisikan secara oblique dalam cetakan, kemudian parafin cair ditambahkan hingga permukaan cetakan penuh. Sampel didinginkan pada suhu ruangan hingga membeku, lalu disimpan pada suhu -4°C .

Blok sampel parafin diiris setebal $4\text{ }\mu\text{m}$ dan diletakkan pada kaca objek yang dilapisi poly-l-lysin. Proses deparafinasi dilakukan dengan merendam sampel dalam xylol I dan II masing-masing selama 10 menit, lalu dilakukan rehidrasi menggunakan serangkaian etanol 100% I dan II masing-masing selama 5 menit, diikuti dengan etanol 95%, 90%, 80%, dan 70% masing-masing selama 1 menit. Preparat jaringan kemudian disimpan dalam inkubator pada suhu 37°C selama 3 hari sebelum akhirnya disimpan di rak penyimpanan hingga siap untuk pewarnaan imunohistokimia.

Lampiran 3 Teknik Pemeriksaan Imunohistokimia

Uji imunohistokimia dilakukan pada jaringan kolon dengan menggunakan dua jenis antibodi primer, yaitu COX2 (monoclonal antibody, EPR12012 / ab179800), antibodi IL-8 (EPR20772 / ab214030). Pencucian dilakukan dengan PBS pH 7,4. Proses antigen retrieval menggunakan buffer citrat pH 6,0 dan dilakukan inkubasi antibodi primer COX2 dan IL-8 selama 1 jam. Inkubasi dengan

Goat Anti Rabbit HRP Conjugate (antibodi sekunder) memakan waktu 15 menit untuk COX2 dan IL-8.

Preparat jaringan yang telah mengalami deparafinisasi direndam dalam xylol I dan II selama 10 menit masing-masing, kemudian direhidrasi menggunakan serangkaian etanol (100% I dan II selama 5 menit, diikuti dengan 95%, 90%, 80%, dan 70% selama 1 menit masing-masing). Sediaan dicuci dua kali dengan aquades dan diletakkan dalam staining jar, yang mampu menampung hingga 15 sediaan. Sediaan dalam staining jar direndam dalam hydrogen peroxide (H₂O₂) 3% pada suhu kamar selama 30 menit dalam kondisi gelap, dicuci tiga kali (masing-masing 3 menit), kemudian dimasukkan ke dalam chamber khusus untuk antigen retrieval selama 20 menit di microwave. Setelah itu, sediaan didinginkan selama 40 menit.

Sediaan dicuci kembali sebanyak tiga kali (masing-masing 3 menit), kemudian ditetesi dengan protein blocking serum dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Setelah pencucian ulang sebanyak tiga kali, sediaan ditetesi dengan antibodi primer dan diinkubasi dalam moist chamber. Kontrol normal tidak diberi antibodi primer. Proses pencucian dilakukan tiga kali lagi, diikuti dengan penambahan mouse specifying dan inkubasi selama 10 menit. Kontrol normal tidak diberikan *mouse specifying*. Setelah pencucian sebanyak tiga kali, semua sediaan ditetesi *Goat Anti Rabbit HRP Conjugate* dan diinkubasi pada suhu kamar dalam *moist chamber*. Setelah pencucian empat kali (masing-masing 3 menit), sediaan ditetesi DAB substrat 1:50 pada suhu kamar selama 10 menit dalam kondisi gelap, dicuci empat kali, ditetesi dengan hematoksin meyer selama 2 menit, dan dibilas dengan air mengalir selama 2 menit.

Proses *mounting* dilakukan dengan mencuci sediaan tiga kali dengan akuades, kemudian mendekarasikan dengan serangkaian etanol (50%, 70%, 80%, 90%, 95%, dan 100% selama 1 menit masing-masing). Sediaan dikeringkan dengan kertas pengering sebelum direndam dalam xylol (I, II, III selama 3 menit masing-masing). Setelah itu, sediaan ditetesi DPX dan ditutup dengan gelas penutup sesuai ukuran sediaan. Hasilnya diamati menggunakan mikroskop konfokal ZEISS LSM 800 dengan mode brightlight yang terhubung dengan komputer laboratorium. Foto diambil menggunakan perangkat lunak Zen 2.3 dengan perbesaran 400x, dan persentase sel positif dinilai menggunakan perangkat lunak Image J.

Lampiran EC

	KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS DAN TEKNOLOGI UNIVERSITAS DIPONEGORO FAKULTAS KEDOKTERAN KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN	Jalan Prof. Mr. Sunario Kampus Universitas Diponegoro Tembalang, Semarang, Kode Pos 50275 Telepon/Faksimile (024) 76928010/ 76928011 Laman: www.fk.undip.ac.id, Pos-el: dean[at]fk.undip.ac.id
	ETHICAL CLEARANCE No. 194/EC/KEPK/FK-UNDIP/VII/2025	
Protokol penelitian yang diusulkan oleh: <i>The research protocol proposed by</i>		
Peneliti Utama : dr. Nurul Ahmad Isnaini <i>Principal Investigator</i>		
Pembimbing : 1. DR. dr. Albertus Ari Adrianto, Msi.Med, Sp.B, Subsp. BD(K) <i>Mentor</i> : 2. DR dr. Udadi Sadhana, M.Kes, Sp.PA, Subsp. M.S (K)		
Nama Institusi : Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran <i>Name of the Institution</i> Universitas Diponegoro		
Dengan Judul : Ekspresi IL 8 dan COX 2 pada tikus sprague dawley dengan kanker <i>Title</i> kolorektal yang diberikan kemoterapi capecitabine dan pylantus niruri linn sebagai immunomodulator		
Tempat Penelitian : 1. Universitas Gajah Mada <i>Research Place</i> 2. Universitas Brawijaya Malang		
Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah, 3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Risiko, 5) Bujukan/Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.		
<i>Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards, 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assessment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion/Exploitation, 6) Confidentiality and Privacy, and 7) Informed Consent, referring to the 2016 CIOMS Guidelines. This is as indicated by the fulfillment of the indicators of each standard.</i>		
Pernyataan Layak Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 25 Juli 2025 sampai dengan tanggal 25 Juli 2026.		
<i>This declaration of ethics applies during the period July 25, 2025 until July 25, 2026</i>		
July 25, 2025 Professor and Chairperson,  Prof. Dr. dr. Banundari Rachmadati, Sp.PK, Subsp.E.M.(K), Subsp.B.D.K.T.(K) NIP. 19600606 198811 2 002		

Descriptives

	KELOMPOK	Statistic	Std. Error
K1	Mean	15,0089	1,21192
	95% Confidence Interval for Lower Bound	12,2142	
	Mean Upper Bound	17,8036	
	5% Trimmed Mean	14,9388	
	Median	14,2200	
	Variance	13,219	
	Std. Deviation	3,63576	
	Minimum	10,63	
	Maximum	20,65	
	Range	10,02	
	Interquartile Range	6,73	
	Skewness	,395	,717
	Kurtosis	-1,074	1,400
	Mean	53,6300	2,71301
	95% Confidence Interval for Lower Bound	47,3738	
COX2	Mean Upper Bound	59,8862	
	5% Trimmed Mean	53,4922	
	Median	52,6500	
	Variance	66,244	
	Std. Deviation	8,13902	
	Minimum	44,39	
	Maximum	65,35	
	Range	20,96	
	Interquartile Range	15,86	
	Skewness	,442	,717
	Kurtosis	-1,280	1,400
	Mean	29,0200	2,23568
	95% Confidence Interval for Lower Bound	23,7335	
	Mean Upper Bound	34,3065	
	5% Trimmed Mean	28,5978	
K3	Median	26,8350	
	Variance	39,986	
	Std. Deviation	6,32346	
	Minimum	23,32	
	Maximum	42,32	

IL8	K4	Range	19,00	
		Interquartile Range	8,15	
		Skewness	1,616	,752
		Kurtosis	2,336	1,481
		Mean	36,4475	2,53408
		95% Confidence Interval for Lower Bound	30,4554	
		Mean Upper Bound	42,4396	
		5% Trimmed Mean	36,6261	
		Median	39,1350	
		Variance	51,373	
		Std. Deviation	7,16746	
		Minimum	24,36	
		Maximum	45,32	
		Range	20,96	
		Interquartile Range	11,26	
	K5	Skewness	-,643	,752
		Kurtosis	-,791	1,481
		Mean	27,9144	2,58352
		95% Confidence Interval for Lower Bound	21,9568	
		Mean Upper Bound	33,8721	
		5% Trimmed Mean	27,5338	
		Median	26,3500	
		Variance	60,071	
		Std. Deviation	7,75057	
		Minimum	19,36	
		Maximum	43,32	
	K1	Range	23,96	
		Interquartile Range	12,16	
		Skewness	,997	,717
		Kurtosis	,500	1,400
		Mean	20,7622	1,52705
IL8	K1	95% Confidence Interval for Lower Bound	17,2408	
		Mean Upper Bound	24,2836	
		5% Trimmed Mean	20,7047	
		Median	19,6300	

		Variance	20,987	
		Std. Deviation	4,58115	
		Minimum	13,22	
		Maximum	29,34	
		Range	16,12	
		Interquartile Range	5,72	
		Skewness	,371	,717
		Kurtosis	,891	1,400
		Mean	49,0900	2,25804
		95% Confidence Interval for Lower Bound	43,8830	
		Mean Upper Bound	54,2970	
		5% Trimmed Mean	48,8794	
		Median	49,6300	
		Variance	45,889	
	K2	Std. Deviation	6,77411	
		Minimum	39,63	
		Maximum	62,34	
		Range	22,71	
		Interquartile Range	9,36	
		Skewness	,587	,717
		Kurtosis	,740	1,400
		Mean	32,2725	1,35287
		95% Confidence Interval for Lower Bound	29,0735	
		Mean Upper Bound	35,4715	
		5% Trimmed Mean	32,3106	
		Median	32,8950	
		Variance	14,642	
	K3	Std. Deviation	3,82650	
		Minimum	26,35	
		Maximum	37,51	
		Range	11,16	
		Interquartile Range	6,50	
		Skewness	-,255	,752
		Kurtosis	-1,106	1,481
	K4	Mean	37,1013	2,42180

K5	95% Confidence Interval for Lower Bound		31,3746	
	Mean	Upper Bound	42,8279	
	5% Trimmed Mean		37,3308	
	Median		40,4850	
	Variance		46,921	
	Std. Deviation		6,84988	
	Minimum		26,22	
	Maximum		43,85	
	Range		17,63	
	Interquartile Range		12,56	
	Skewness		-,693	,752
	Kurtosis		-1,458	1,481
	Mean		26,0844	2,54812
	95% Confidence Interval for Lower Bound		20,2085	
	Mean	Upper Bound	31,9604	
	5% Trimmed Mean		26,3844	
	Median		29,4700	
	Variance		58,436	
	Std. Deviation		7,64436	
	Minimum		13,25	
	Maximum		33,52	
	Range		20,27	
	Interquartile Range		13,48	
	Skewness		-,779	,717
	Kurtosis		-,896	1,400

KELOMPOK**Case Processing Summary**

	KELOMPOK	Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
COX2	K1	9	100,0%	0	0,0%	9	100,0%
	K2	9	100,0%	0	0,0%	9	100,0%
	K3	8	100,0%	0	0,0%	8	100,0%
	K4	8	100,0%	0	0,0%	8	100,0%
	K5	9	100,0%	0	0,0%	9	100,0%
IL8	K1	9	100,0%	0	0,0%	9	100,0%
	K2	9	100,0%	0	0,0%	9	100,0%
	K3	8	100,0%	0	0,0%	8	100,0%
	K4	8	100,0%	0	0,0%	8	100,0%
	K5	9	100,0%	0	0,0%	9	100,0%

Tests of Normality

	KELOMPOK	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
COX2	K1	,145	9	,200*	,925	9	,436
	K2	,173	9	,200*	,902	9	,265
	K3	,275	8	,077	,825	8	,053
	K4	,245	8	,172	,919	8	,422
	K5	,246	9	,123	,907	9	,296
IL8	K1	,153	9	,200*	,974	9	,926
	K2	,190	9	,200*	,952	9	,707
		,169	8	,200*	,968	8	,878
	K3						

K4	,270	8	,088	,853	8	,102
K5	,227	9	,200*	,870	9	,124

Anova

Descriptives								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
COX2	K1	9	15,0089	3,63576	1,21192	12,2142	17,8036	10,63
	K2	9	53,6300	8,13902	2,71301	47,3738	59,8862	44,39
	K3	8	29,0200	6,32346	2,23568	23,7335	34,3065	23,32
	K4	8	36,4475	7,16746	2,53408	30,4554	42,4396	24,36
	K5	9	27,9144	7,75057	2,58352	21,9568	33,8721	19,36
	Total	43	32,3888	14,58782	2,22462	27,8994	36,8783	10,63
IL8	K1	9	20,7622	4,58115	1,52705	17,2408	24,2836	13,22
	K2	9	49,0900	6,77411	2,25804	43,8830	54,2970	39,63
	K3	8	32,2725	3,82650	1,35287	29,0735	35,4715	26,35
	K4	8	37,1013	6,84988	2,42180	31,3746	42,8279	26,22
	K5	9	26,0844	7,64436	2,54812	20,2085	31,9604	13,25
	Total	43	32,9865	11,62971	1,77351	29,4074	36,5656	13,22

Test of Homogeneity of Variances				
	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
COX2	1,628	4	38	,187
IL8	1,898	4	38	,131

ANOVA

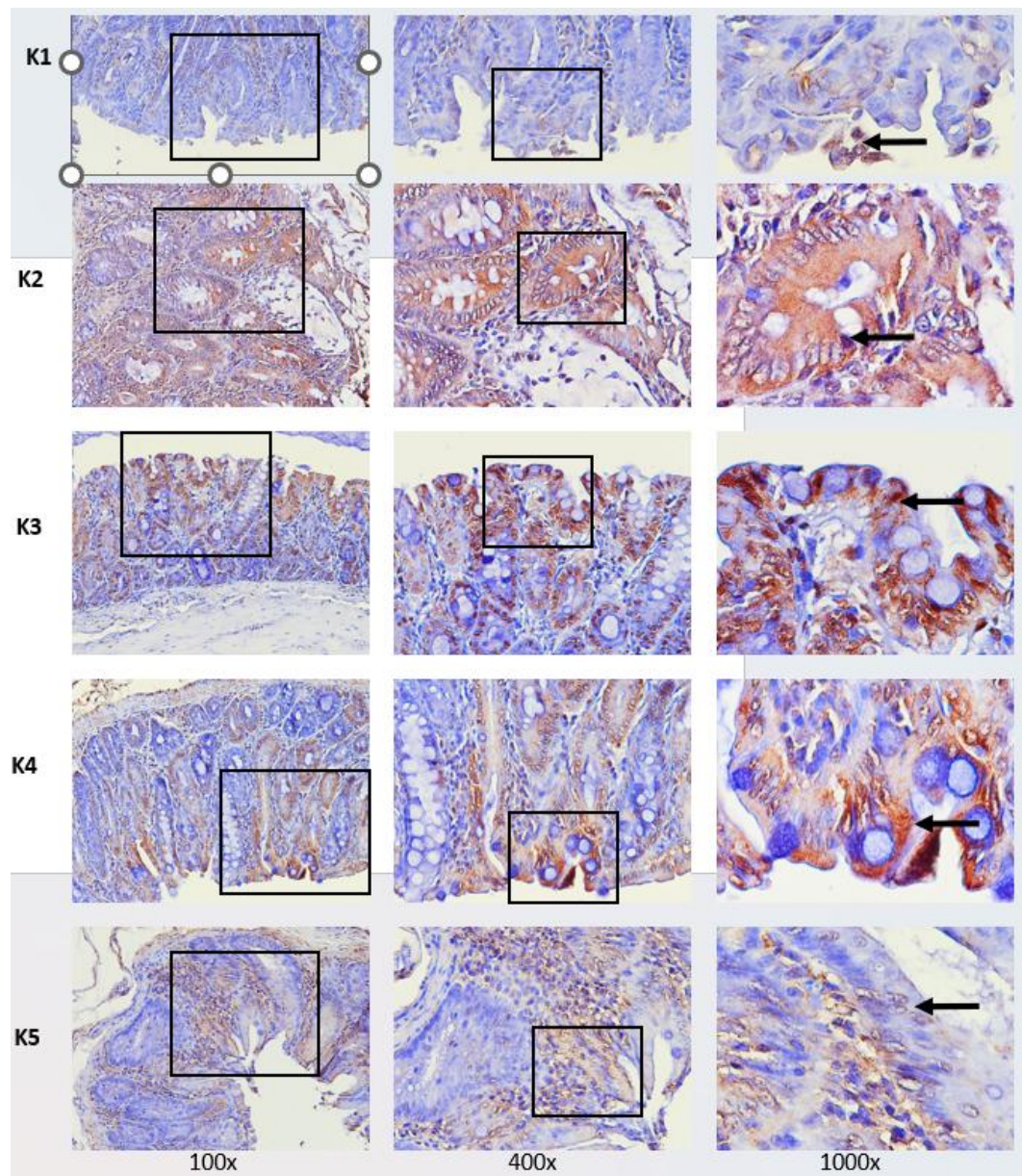
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
COX2	Between Groups	7182,003	4	1795,501	38,860	,000
	Within Groups	1755,780	38	46,205		
	Total	8937,783	42			
IL8	Between Groups	4247,074	4	1061,769	28,147	,000
	Within Groups	1433,435	38	37,722		
	Total	5680,509	42			

Multiple Comparisons

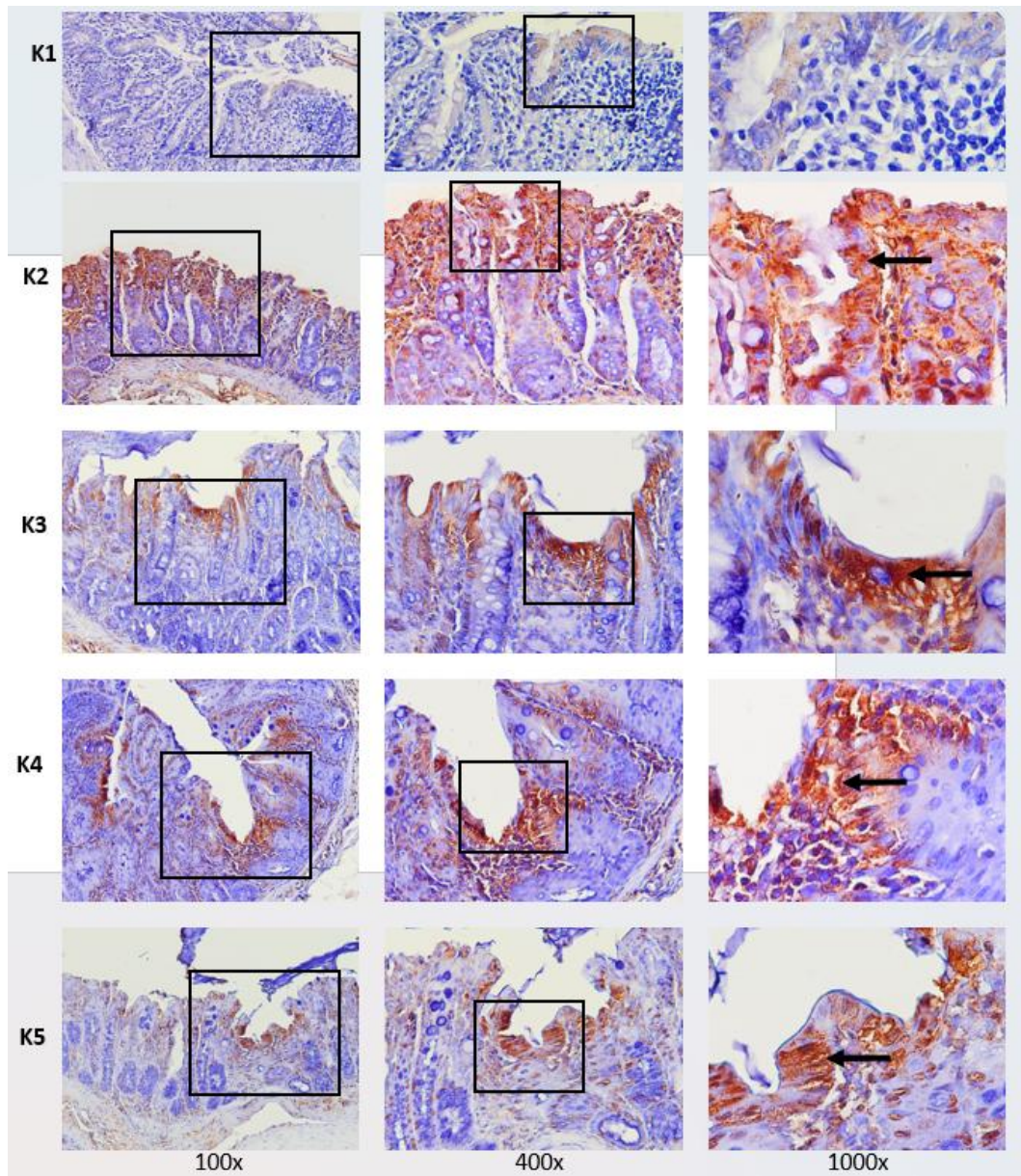
Tukey HSD

Dependent Variable	(I) KELOMPOK	(J) KELOMPOK	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
COX2	K1	K2	-38,62111 [*]	3,20433	,000	-47,7953	-29,4469
		K3	-14,01111 [*]	3,30295	,001	-23,4676	-4,5546
		K4	-21,43861 [*]	3,30295	,000	-30,8951	-11,9821
		K5	-12,90556 [*]	3,20433	,002	-22,0797	-3,7314
	K2	K1	38,62111 [*]	3,20433	,000	29,4469	47,7953
		K3	24,61000 [*]	3,30295	,000	15,1535	34,0665
		K4	17,18250 [*]	3,30295	,000	7,7260	26,6390
		K5	25,71556 [*]	3,20433	,000	16,5414	34,8897
	K3	K1	14,01111 [*]	3,30295	,001	4,5546	23,4676
		K2	-24,61000 [*]	3,30295	,000	-34,0665	-15,1535
		K4	-7,42750	3,39870	,207	-17,1582	2,3032
		K5	1,10556	3,30295	,997	-8,3510	10,5621
	K4	K1	21,43861 [*]	3,30295	,000	11,9821	30,8951
		K2	-17,18250 [*]	3,30295	,000	-26,6390	-7,7260
		K3	7,42750	3,39870	,207	-2,3032	17,1582
IL8	K5	K5	8,53306	3,30295	,094	-,9235	17,9896
		K1	12,90556 [*]	3,20433	,002	3,7314	22,0797
		K2	-25,71556 [*]	3,20433	,000	-34,8897	-16,5414
	K1	K3	-1,10556	3,30295	,997	-10,5621	8,3510
		K4	-8,53306	3,30295	,094	-17,9896	,9235
		K2	-28,32778 [*]	2,89528	,000	-36,6171	-20,0384
	K2	K3	-11,51028 [*]	2,98439	,004	-20,0548	-2,9658
		K4	-16,33903 [*]	2,98439	,000	-24,8835	-7,7945
		K5	-5,32222	2,89528	,367	-13,6116	2,9671
	K3	K1	28,32778 [*]	2,89528	,000	20,0384	36,6171
		K3	16,81750 [*]	2,98439	,000	8,2730	25,3620
		K4	11,98875 [*]	2,98439	,002	3,4443	20,5332
	K4	K5	23,00556 [*]	2,89528	,000	14,7162	31,2949
		K1	11,51028 [*]	2,98439	,004	2,9658	20,0548
		K2	-16,81750 [*]	2,98439	,000	-25,3620	-8,2730
	K5	K4	-4,82875	3,07091	,524	-13,6210	3,9635
		K5	6,18806	2,98439	,252	-2,3564	14,7325
		K1	16,33903 [*]	2,98439	,000	7,7945	24,8835
	K1	K2	-11,98875 [*]	2,98439	,002	-20,5332	-3,4443

Lampiran Gambar Imunohistokimia IL-8



Lampiran Gambar Imunohistokimia COX-2



Lampiran Foto Penelitian

