

## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1. Latar Belakang

Kanker adalah penyebab kematian terbanyak pada negara maju dan penyebab kematian kedua pada negara berkembang. Meningkatnya angka kejadian kanker pada negara berkembang disebabkan oleh karena meningkatnya angka harapan hidup, perubahan gaya hidup yang berhubungan dengan kanker / *cancer-associated lifestyle* seperti merokok, aktivitas fisik yang kurang, dan “*westernized*” diets.<sup>1</sup>

Kanker kolorektal adalah kanker terbanyak ketiga pada laki-laki setelah kanker paru dan kanker prostat dan terbanyak ke dua pada wanita setelah kanker payudara. Pada tahun 2008 diperkirakan ditemukan 1,2 juta kasus baru dengan angka kematian mencapai 608.700. Insiden tertinggi terjadi di Australia, Selandia Baru, dan Amerika Utara dan terendah ditemukan di Afrika dan Asia.<sup>1</sup> Di Amerika Serikat, setiap tahunnya ditemukan 160.000 kasus dengan angka kematian 57.000. Pada tahun 2009 diperkirakan ditemukan 147.000 kasus baru dengan angka kematian 50.000. Hal ini menempatkan kanker kolorectal sebagai pembunuh kedua terbanyak oleh karena kanker pada negara tersebut.<sup>2,3</sup> Di Eropa ditemukan 376.000 kasus baru setiap tahunnya dengan angka kematian mendekati 203.700.<sup>4</sup>

Di Asia Tenggara angka kejadian kanker kolorektal 15,2 pada laki-laki dan 12,9 pada wanita per 100.000 penduduk.<sup>1</sup> Di Thailand, angka kejadian kanker

kolorectal 8,8 pada laki-laki, terbanyak ketiga setelah kanker liver dan paru, 7,6 pada wanita, terbanyak kelima setelah kanker servik, payudara, lever dan paru . Diperkirakan ada lebih dari 8000 kasus baru pada tahun 2008.<sup>5</sup> Di Indonesia, kanker kolorectal termasuk salah satu masalah kesehatan yang harus ditangani dengan serius. Kanker ini termasuk dalam tiga kanker terbanyak dengan angka kejadian 19,1 pada laki-laki dan 15,6 pada wanita. Walaupun angka ini relatif lebih rendah dibandingkan dengan Australia, Selandia Baru dan Eropa barat, karena jumlah penduduk Indonesia yang lebih banyak maka jumlah kasusnya menjadi lebih banyak. Perbedaan yang lebih mencolok pada epidemiologi kanker kolorectal di Indonesia dibandingkan dengan negara maju adalah angka kejadian pada usia < 40 th lebih besar (> 30 %) sedangkan di negara maju angka kejadian pada usia < 50 th hanya 2-8 %.<sup>6</sup> Data berbeda ditemukan pada Profil Kesehatan Indonesia tahun 2008 yang menempatkan kanker kolon pada urutan ke 8 dari seluruh kejadian kanker yang dirawat inap dan jumlahnya makin meningkat setiap tahunnya.<sup>7</sup> Sjamsuhidajat dkk mengevaluasi data-data di Departemen Kesehatan RI, mendapatkan angka insidensi 1,8 per 100.000 penduduk, sedangkan Suropto dkk membuktikan bahwa insidensi kanker kolon di Indonesia hampir sama pada setiap senter diagnosis patologis.<sup>8,9</sup> Data dari *Jakarta Cancer Registry* menunjukkan kanker kolorectal pada urutan kedua setelah kanker paru dengan angka kejadian 3,15 per 100.000.<sup>10</sup> Berdasarkan laporan program yang berasal dari Rumah Sakit dan Puskesmas di kota Semarang tahun 2009, kanker kolorektal menempati peringkat kedua dari seluruh kanker terbanyak pada pria setelah

kanker paru, sedangkan pada wanita merupakan nomor tiga setelah kanker serviks dan payudara di kota Semarang.<sup>11</sup>

Walaupun angka kejadian kanker kolorektal di Amerika Serikat masih tinggi, tetapi negara ini telah berhasil menurunkan secara signifikan.<sup>1</sup> Kunci utama keberhasilan ini adalah perbaikan program pengobatan, kesadaran masyarakat untuk menjalankan pola hidup sehat dan adanya program skrining yang baik. Hal ini sepertinya masih menjadi kendala besar dalam pengelolaan kanker kolorektal di Indonesia dimana sebagian besar penderita kanker datang setelah stadium lanjut ditambah dengan rendahnya pengetahuan dan kesadaran masyarakat mengenai sistem deteksi dini kanker. Sistem deteksi dini akan menurunkan angka kejadian sampai 33% dan angka kematian 43%.<sup>1</sup> Jika kanker ditemukan dalam stadium dini maka angka *5-year survival rate* nya akan lebih baik (67% - 74%).<sup>12, 13</sup>

Penatalaksanaan kanker kolorektal berdasarkan Panduan Klinis Nasional Pengelolaan Karsinoma Kolorektal dari Kelompok Kerja Adenokarsinoma Kolorektal Indonesia tahun 2004 menempatkan terapi pembedahan sebagai modalitas utama pada kanker yang masih terlokalisir, sedangkan pada kanker stadium lanjut dan pada kejadian kekambuhan pemberian terapi kemoradiasi masih bisa memberikan harapan.<sup>14</sup> Penelitian tentang adjuvan kemoterapi telah banyak dilakukan dan menunjukkan kemajuan yang bermakna dalam angka *survival*. Berdasarkan rekomendasi *National Comprehensive Cancer Network* (NCCN) tahun 2013 regimen kemoterapi pada kanker kolon yang sering digunakan bisa dalam bentuk kombinasi seperti mFOLFOX 6, FLOX, CapeOx,

dan 5FU-Leucovorin ataupun dalam bentuk monoterapi seperti Capecitabine, Bevacizumab, Cetuximab, Panitumumab, dan Irinotecan. Regimen *first line* yang saat ini direkomendasikan adalah kombinasi 5FU-Leucovorin yang dapat dipertimbangkan diberikan mulai stadium IIA dengan resiko tinggi, dan dapat digunakan sebagai terapi intensif inisial pada penyakit *advanced* atau metastasis.<sup>15</sup> Regimen kombinasi 5FU-Leucovorin memiliki angka *DFS* > 3 tahun 71-73% dan angka *survival* > 3 tahun 83-83% pada kanker kolon stadium II dan III serta memiliki angka respon 20-30% dengan *median survival* 12-18 bulan pada kanker kolon metastatic.<sup>16, 17</sup>

Modalitas terapi kanker kolon lainnya yang sedang banyak dikembangkan saat ini adalah imunoterapi yaitu dengan memodulasi sistem kekebalan tubuh terhadap tumor, yang diharapkan dapat membunuh sel-sel kanker yang tersebar secara sistemik setelah terapi definitif lokal dilakukan. Tumor, walaupun berasal dari jaringan tubuh sendiri akan mengekspresikan antigen yang akan dikenali oleh sistem imun sebagai benda asing sehingga akan memicu respon imun. Sistem imun akan melakukan perondaan di sekitar tumor (*immunosurveillance*). Sel mutan dianggap akan mengekspresikan satu atau lebih antigen yang dapat dikenal sebagai *nonself*. Sel NK, CTL dan makrofag ternyata paling berperan dalam *immunosurveillance* tumor, setelah mengenal sel kanker sebagai sel asing, ketiga sel imun tersebut akan menghancurkan sel kanker. Sel CTL dan sel NK melakukan cara sitotoksitas yang sama yaitu dengan mengeluarkan granula azurofilik yang mengandung perforin, sitotoksin, serine esterase (granzyme) dan proteoglikan<sup>18</sup>. Perforin dan granzym akan bekerjasama dalam memicu proses

apoptosis pada sel target. Granzym diperlukan untuk mengaktifkan proses apoptosis dan kerjanya sangat bergantung pada perforin. Perforin akan menimbulkan lubang pada membran sel target sehingga memungkinkan molekul sitotoksik lain masuk dalam sitoplasma dan inti sel yang akhirnya mengakibatkan kematian dari sel target tersebut (apoptosis) , sedangkan makrofag menggunakan cara fagositosis<sup>18, 19, 20</sup>

Selain disebabkan granula azurofilik, proses apoptosis bisa juga distimulasi oleh kemoterapi, ultraviolet/radiasi dan panas.<sup>18</sup> Perforin bisa digunakan sebagai marker dari aktifitas sel yang bersifat sitotoksik tersebut dengan cara menghitung jumlah semua sel mononuklear yang berwarna coklat dengan pewarnaan *antibody monoclonal anti-perforin* pada daerah sekitar tumor. Sel terget yang mengalami apoptosis dapat diketahui dengan melihat *apoptotic body* yang ada atau dengan menggunakan pemeriksaan imunohistokimia untuk melihat pecahan DNA akibat apoptosis dengan cara labeling enzimatik.<sup>18</sup>

Penelitian berbagai tanaman obat sebagai alternatif antikanker telah banyak dilakukan. Penelitian secara intensive dilakukan sejak tahun 1954 setelah *United States National Cancer Institute (NCI)* menggalakan program ini. Pytokimia yang sudah diteliti diantaranya *ganiestein* dari kacang-kacangan, *andrographolide* dari *Andrographis paniculata*, ekstrak methanol dari *Dendrosicyos Socotrana*, *Withania aduensis*, *Withania riebeckii*, *Dracena Cinnabari* dan *Buxus hildebrandlii*, *limonoids* dari ekstrak methanol *Khaya Senegalensi*, ekstrak *polifenol*, *flavonols*, *proanthocyanidin*, *oligomers*, dan *triterpenoids* dari *Vaccinium macrocarpon*, *Saponin* dari *clematis manshrica*,

*gallic acid (GA)* suatu antioksidan alami dari tanaman asli Indonesia mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dan masih banyak lagi.<sup>21</sup>

Di Indonesia, *Phaleria macrocarpa* (Mahkota Dewa) sudah banyak digunakan sebagai tanaman obat anti kanker / sitostatika yaitu yang mempunyai efek dapat menghambat pertumbuhan sel tumor. *Phaleria macrocarpa* telah banyak digunakan dan dijual di pasaran sebagai pengobatan anti kanker dengan dosis 5 gram sehari dalam bentuk sediaan kering kulit dan daging buahnya.<sup>22</sup> Dalam beberapa hasil penelitian diketahui bahwa mahkota dewa kaya akan kandungan kimia tetapi belum semuanya terungkap. Dalam daun dan kulit buahnya terkandung *alkaloid, terpenoid, saponin, flavonoid*, dan senyawa lignan (*polifenol*). berupa *gallic acid* (GA : 3,4,5-trihydroxybenzoic acid).<sup>23,24,25</sup> Pada penelitian dengan menggunakan sel kanker esofagus (TE-1) terlihat bahwa *gallic acid* akan meningkatkan protein pro apoptosis *Bax* dan menurunkan protein anti apoptosis *Bcl-2* serta *Xiap*. *GA* juga akan mengurangi *survival* dari *pathway Akt/mTOR* yang akan meningkatkan inisiasi apoptosis. Tetapi sebaliknya pada sel non-kanker (CHEK-1) terjadi hambatan protein pro apoptosis dan tidak terjadi penurunan ekspresi protein *survival*. *Phaleria macrocarpa* juga tidak mengganggu siklus sel serta akan meningkatkan apoptosis pada sub-populasi fase G1, sehingga diperkirakan bahwa *Phaleria macrocarpa* tidak berbahaya bagi sel normal.<sup>26</sup> Penelitian mahkota dewa terhadap sel hela, memberikan hasil bahwa mahkota dewa mempunyai efek sitotoksik yang cukup kuat. Efek sitotoksik mahkota dewa mendekati efek sitotoksik doxorubicin sebagai kontrol positifnya.<sup>27</sup> Penelitian terhadap mencit C3H yang diinokulasi dengan kanker mamma dengan

menggunakan dosis bertingkat mahkota dewa 0,035 mg/hari, 0,0715 mg/hari dan 0,14 mg/hari ternyata didapatkan peningkatan ekspresi perforin dan apoptosis secara bermakna.<sup>18</sup> Penelitian ini ingin melihat pengaruh pemberian ekstrak *Phaleria macrocarpa* terhadap Ekspresi Perforin dan Indeks Apoptosis pada adenocarcinoma kolon tikus *Sprague-Dawley* yang diberi neoadjuvant 5-FU dan Leucovorin.

## 1.2. Rumusan Masalah

1. Apakah Ekspresi Perforin pada adenocarcinoma kolon tikus *Sprague-Dawley* yang mendapat ekstrak *Phaleria macrocarpa* lebih tinggi dibanding yang tidak mendapat ekstrak *Phaleria macrocarpa*?
2. Apakah Indeks Apoptosis pada Adenocarcinoma kolon tikus *Sprague-Dawley* yang mendapat ekstrak *Phaleria macrocarpa* lebih tinggi dibanding yang tidak mendapat ekstrak *Phaleria macrocarpa*?
3. Apakah Ekspresi Perforin pada adenocarcinoma kolon tikus *Sprague-Dawley* yang diberi neoadjuvant 5-FU dan Leucovorin dan mendapat ekstrak *Phaleria macrocarpa* lebih tinggi dibanding yang tidak mendapat ekstrak *Phaleria macrocarpa* ?
4. Apakah Indeks Apoptosis pada Adenocarcinoma kolon tikus *Sprague-Dawley* yang diberi neoadjuvant 5-FU dan Leucovorin dan mendapat ekstrak *Phaleria macrocarpa* lebih tinggi dibanding yang tidak mendapat ekstrak *Phaleria macrocarpa* ?

5. Apakah ada hubungan antara ekspresi perforin dengan indeks apoptosis pada sel Adenocarcinoma kolon tikus *Sprague-Dawley* yang mendapat ekstrak *Phaleria macrocarpa* dibanding yang tidak mendapat ekstrak *Phaleria macrocarpa* ?
6. Apakah ada hubungan antara ekspresi perforin dengan indeks apoptosis pada sel Adenocarcinoma kolon tikus *Sprague-Dawley* yang diberi neoadjuvant 5-FU dan Leucoverin dan mendapat ekstrak *Phaleria macrocarpa* dibanding yang tidak mendapat ekstrak *Phaleria macrocarpa*?

### **1.3. Tujuan Penelitian**

#### **1.3.1. Tujuan umum**

Membuktikan efek penambahan ekstrak *Phaleria macrocarpa* terhadap tikus *Sprague-Dawley* dengan adenocarcinoma kolon yang diberi neoadjuvant 5-FU dan Leucoverin dan yang tidak diberi neoadjuvant 5-FU dan Leucoverin.

#### **1.3.2. Tujuan khusus**

1. Membuktikan peningkatan ekspresi perforin pada kelompok tikus *Sprague-Dawley* dengan adenocarcinoma kolon yang mendapat ekstrak *Phaleria macrocarpa*
2. Membuktikan peningkatan indeks apoptosis pada kelompok tikus *Sprague-Dawley* dengan adenocarcinoma kolon yang mendapat ekstrak *Phaleria macrocarpa*



3. Membuktikan peningkatan ekspresi perforin pada kelompok tikus *Sprague-Dawley* dengan adenocarcinoma kolon yang diberi neoadjuvant 5-FU dan Leucovorin dan mendapat ekstrak *Phaleria macrocarpa*
4. Membuktikan peningkatan indeks apoptosis pada kelompok tikus *Sprague-Dawley* dengan adenocarcinoma kolon yang diberi neoadjuvant 5-FU dan Leucovorin dan mendapat ekstrak *Phaleria macrocarpa*
5. Membuktikan hubungan antara ekspresi perforin dengan indeks apoptosis sel kanker adenocarcinoma kolon.

#### **1.4. Manfaat Penelitian**

Apabila pada penelitian pemberian ekstrak *Phaleria macrocarpa* terbukti bermanfaat dalam meningkatkan system imun dan sitostatika , maka dapat menjadi sebuah wacana baru di bidang onkologi, imunologi dan pengobatan tradisional herbal sebagai terapi *adjuvant* dalam peranannya sebagai immunostimulator dan sitostatika.

### 1.5. Orisinalitas Penelitian

Penulis	Jurnal	Judul/Penerbit	Simpulan
Budijitno S., Handojo D., Issakh B., Pudjonarko D., Riwanto I.	Media Medika Indonesiana : vol. 42, nomor : 1, Desember 2007	Pengaruh Ekstrak mahkota dewa (Phaleria macrocarpa) terhadap Skor Ekspresi Perforin CTL dan Sel-NK serta indeks Apoptosis pada Adenokarsinoma Mamma Mencit C3H	Pemberian dosis bertingkat ekstrak Phaleria macrocarpa meningkatkan ekspresi perforin dan indeks apoptosis.
Riwanto I., Budijitno S., Dharmana E., Handojo D., Prasetyo SA, Eko A, Suseno D	International surgery journal Pubmed.gov April – Juni 2011	Effect of Phaleria macrocarpa supplementation on apoptosis and tumor growth of C3H mice with breast cancer under treatment with adriamycin- cyclophosphamide.	Suplementasi Phaleria macrocarpa memiliki efek yang sinergis terhadap terapi adriamycin- cyclophosphamide dalam mengurangi perkembangan massa tumor dengan meningkatkan apoptosis dan melindungi hati dan ginjal dari kerusakan akibat penggunaan adriamycin dan cyclophosphamide

Samiasih A	Undip.ac.id 2010	Perbedaan ekspresi VEGF sel Adenokarsinoma kolorektal tikus Sprague dawley dengan dan tanpa pemberian ekstrak Phylantus niruri	Ada erbedaan bermakna ekspresi VEGF sel adenokarsinoma kolorektal dengan dan tanpa pemberian P niruri. Ekspresi VEGF kelompok perlakuan lebih rendah dibandingkan kelompok control
------------	---------------------	--	--

Dari penelitian-penelitian tersebut belum ada yang pernah meneliti pengaruh pemberian ekstrak *Phaleria macrocarpa* terhadap ekspresi perforin dan indeks apoptosis adenocarcinoma kolon tikus *Sprague-Dawley* yang diberi neoadjuvant 5-FU dan Leucoverin. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar penelitian lanjutan.