

# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1.Latar Belakang**

Keseluruhan kejadian kanker kulit (melanoma dan non melanoma) meliputi separuh dari kasus kanker di dunia. Kanker kulit kelompok non melanoma merupakan salah satu jenis kanker yang sering terjadi, insidennya mencapai 2 sampai 3 juta per tahun di seluruh dunia. Karsinoma epidermoid atau karsinoma sel skuamosa kulit adalah satu dari beberapa tipe kanker kulit non melanoma yang tersering didiagnosis, setelah karsinoma sel basal.<sup>1,2</sup>

Karsinoma epidermoid lebih banyak dijumpai pada laki-laki dibanding wanita, dan lebih sering dijumpai pada orang kulit putih dibanding kulit berwarna, terutama usia 40 -50 tahun, dengan lokasi pada daerah yang sering terpapar sinar matahari, seperti wajah, telinga, bibir bawah, punggung, tangan dan tungkai bawah. Tahun 2012 di Amerika Serikat diperkirakan kejadian kanker kulit sekitar 3,5 juta kasus pertahun, dimana karsinoma epidermoid menempati peringkat kedua terbanyak dengan kejadian sekitar 700.000 kasus pertahun, dibawah karsinoma sel basal (angka kejadian sekitar 2,8 juta kasus pertahun), dan diatas melanoma maligna (sekitar 76.250 kasus pertahun).<sup>3</sup>

Dari seluruh keganasan yang diperiksa pada 17 laboratorium Patologi Anatomi diseluruh Indonesia, keganasan kulit menduduki urutan ke 3. Dari 13 center PA kanker kulit di Indonesia, didapatkan karsinoma epidermoid sebanyak 42,9% dan karsinoma sel basal sebanyak 32,9%. Di Semarang (1985-1989), keganasan kulit menempati urutan ke 2 dari seluruh keganasan pada laki-laki dan urutan ke 3 pada wanita.<sup>4</sup>

Ada 4 metode pengobatan yang umumnya dilakukan pada karsinoma epidermoid, yaitu: bedah eksisi, radiasi, kemoterapi, biologi targeting terapi. Pembedahan merupakan tindakan pilihan utama. Pembedahan yang dilakukan sebagai terapi dari karsinoma epidermoid adalah eksisi luas dengan batas irisan dari tepi tumor sebesar 2 cm atau lebih. Namun, menurut American Cancer of Society angka kekambuhan karsinoma epidermoid masih tinggi, yaitu 2 % dan 8,9 % paska eksisi luas dengan batas eksisi pada jarak 2 cm dari tepi tumor, paska radioterapi 7 % - 50 % dan 20 % paska kuretase dan elektrodeseksi.<sup>2</sup>

Modalitas kemoterapi dengan obat anti kanker/ sitostatika pada karsinoma epidermoid saat ini diindikasikan pada kasus dengan metastasis jauh, *inoperable* atau penderita yang gagal diterapi dengan pembedahan dan radioterapi (*salvage operation*). Disamping itu, saat ini terdapat kecenderungan untuk menggunakan *neoadjuvant* kemoterapi sebelum pembedahan atau radioterapi untuk mengurangi volume tumor dan optimalisasi penyembuhan. Kemoterapi yang sering digunakan adalah cisplatin, golongan taxan, 5-fluorouracil, bleomycin dan doxorubicin.

*Respon rate* untuk parsial adalah 40%-54% dan untuk respon komplit 28%-31% tergantung regimen yang diberikan. Remisi jangka panjang dapat dicapai, terutama bila *neoadjuvant* kemoterapi dikombinasikan dengan pembedahan dan radioterapi.<sup>5</sup>

*Phaleria macrocarpa* (Mahkota Dewa) adalah salah satu tanaman obat tradisional Indonesia yang sudah banyak digunakan sebagai tanaman obat anti kanker / sitostatika yang mempunyai efek menghambat pertumbuhan massa tumor payudara. *Phaleria macrocarpa* telah banyak digunakan dan dijual di pasaran bebas sebagai pengobatan anti kanker dengan dosis 5 gram sehari dalam bentuk sediaan kering kulit dan daging buahnya<sup>6,9</sup>.

Penelitian terhadap ekstrak daging dan kulit buah *Phaleria macrocarpa* menunjukkan adanya kandungan beberapa zat berupa alkaloid, terpenoid, saponin, dan terdapat senyawa aktif polyphenol berupa *gallic acid* (GA : 3,4,5-trihydroxybenzoic acid). Pada penelitian dengan menggunakan sel kanker esofagus (TE-1) terlihat bahwa GA 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* tidak mengganggu siklus sel serta akan meningkatkan apoptosis pada sub-populasi fase G1, sehingga diperkirakan bahwa *Phaleria macrocarpa* tidak berbahaya bagi sel normal. Jadi *Phaleria macrocarpa* tidak hanya bekerja

secara spesifik pada saat sel mengalami mitosis<sup>18</sup>. Setelah mengalami metabolisme, *gallic acid* (*GA* : *3,4,5-trihydroxybenzoic acid* ), dalam plasma akan ditemukan metabolitnya berupa *4-O-methylgallic acid* (*4OMGA*), *pyrogallol* (*PY*), *2-O-methylpyrogallol* (*2OMPY*) and *resorcinol* (*RE*). Ekskresi pada urin berupa *pyrogallol*, *pyrogallol-1-O-β-D-glucuronide*, *4-O-methylgallic acid-3-O-sulfate*, *2-O-methylpyrogallol-1-O-β-D-glucuronide* , *2-O-methylpyrogallol*, *4-O-methylgallic acid*, serta *gallic acid*<sup>15</sup>.

Penelitian Gamaleya Institute of Microbiology and Epidemiology Moscow, Russia dan Chittaranjan National Cancer Institute, Kolkata, India beberapa peneliti – yang meneliti efek kandungan polyphenol pada herbal medicine – mengemukakan bahwa poliphenol alamiah dapat menstimulasi produksi Interferon- $\gamma$  (IFN-  $\gamma$ ) dan IL-12 dalam suatu populasi immunosit, yang sangat penting dalam memacu aktivasi makrofag (untuk mengekspresikan *Tumor Necrosis Factor*(*TNF*)), CTL's dan sel NK yang berperan besar dalam perondaan imun terhadap kanker. Setelah sel kanker dikenal sebagai sel asing, sel imun tersebut akan menghancurkan sel kanker<sup>11,12</sup>. Sel CTL dan sel NK melakukan cara sitotoksitas yang sama yaitu dengan mengeluarkan *perforin* dan *granzyme*, di mana perforin ini sebagai *pore forming* untuk memasukkan *granzyme* ke dalam sitosol melalui jalur eksositosis. Akibat aktifitas sel-sel efektor immune tersebut maka sel-sel target akan mengalami apoptosis yang dapat dinilai dengan suatu indeks apoptosis.<sup>13</sup>

Interleukin-12 adalah sejenis sitokina yang disekresi oleh sel dendritik, makrofag dan sel B limfoblastoid sebagai respon terhadap stimulasi antigen. Interleukin-12 disebut juga sebagai faktor stimulan sel T, karena berperan dalam diferensiasi sel T CD 4. Selain itu Interleukin-12 juga berfungsi sebagai stimulan bagi sitokin IFN- $\gamma$  dan TNF- $\alpha$ , stimulasi IFN- $\gamma$  dilakukan dengan mengurangi efek sitokin IL-4 yang menjadi regulator IFN- $\gamma$ . Lebih lanjut, produksi IFN- $\gamma$  akan meningkatkan kadar interferon gamma induced protein 10 yang bersifat anti angiogenik

*Granzyme* adalah serine proteinase eksogen dimana dilepaskan oleh granula sitoplasma dari *cytotoxic lymphocytes* (CTL) dan sel-NK. Granula ini mengeluarkan protein lainnya termasuk perforin. Dengan cara berikatan pada CTL menuju sel target (melalui reseptor-CTL dan molekul antigen-presenting MHC pada sel target). *Granzyme* masuk ke dalam sitosol melalui jalur eksositosis, perforins masuk kedalam sel target dengan polymerisasi membran dan membuat membran sel target perforasi dengan membentuk *pore transmembran*.<sup>3-9.</sup>

## 1.2.Rumusan Masalah

Dari uraian diatas, kami dapat simpulkan beberapa permasalahan yaitu:

1.2.1. Apakah terdapat perbedaan ekspresi IL-12 pada karsinoma epidermoid antara kelompok mencit yang diberi *Phaleria macrocarpa*, sitostatika, dan kombinasi keduanya dibanding kelompok kontrol.?

- 1.2.2. Apakah terdapat perbedaan ekspresi granzyme pada karsinoma epidermoid antara kelompok mencit yang diberi *Phaleria macrocarpa*, sitostatika, dan kombinasi keduanya dibanding kelompok kontrol?
- 1.2.3. Apakah ada hubungan antara IL-12 dengan granzyme pada kelompok mencit yang diberi *Phaleria macrocarpa*, sitostatika, dan kombinasi keduanya?

### **1.3.Tujuan Penelitian**

#### 1.3.1. Tujuan umum:

Menganalisa pengaruh pemberian ekstrak *Phaleria macrocarpa*, sitostatika, dan kombinasi *Phaleria macrocarpa* dan sitostatika terhadap ekspresi IL-12 dan granzyme tumor pada karsinoma epidermoid mencit Swiss secara *in vivo*.

#### 1.3.2. Tujuan khusus:

1.3.2.1. Membuktikan perbedaan ekspresi IL-12 pada karsinoma epidermoid antara kelompok mencit yang diberi *Phaleria macrocarpa*, sitostatika, dan kombinasi keduanya dibanding kelompok kontrol.

1.3.2.2. Membuktikan perbedaan ekspresi granzyme antara kelompok mencit dengan karsinoma epidermoid yang diberi *Phaleria macrocarpa*, sitostatika, dan kombinasi keduanya dibanding kelompok kontrol..

1.3.2.3. Menganalisa hubungan antara IL-12 dengan ekspresi granzyme pada karsinoma epidermoid sebelum dan setelah diberi *Phaleria macrocarpa*, sitostatika, dan kombinasi keduanya.

#### 1.4. Manfaat Penelitian

Diharapkan pada penelitian ini dapat menambah khasanah ilmu baik di bidang bedah onkologi, medikal onkologi, imunologi, serta akan menambah khasanah baru di bidang *herbal medicine*, dengan kehadiran profil *herbal medicine* baru yaitu *Phaleria macrocarpa*.

Uji coba pra klinik pada penelitian ini dapat dikembangkan menjadi pengujian klinik pada manusia di masa yang akan datang.

#### 1.5. Orisinalitas Penelitian

Penulis	Judul / Penerbit	Hasil
Amit KT, Madhumita R, Bhattacharya RK.	Natural products as inducers of apoptosis: Implication for cancer therapy and prevention. Current Science 2001;80(11):1387-96.	Poliphenol dari tanaman herbal dapat menstimulasi produksi Interferon- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ ) dan IL-12 dalam suatu populasi immunosit, yang sangat penting dalam memacu aktivasi makrofag (untuk mengekspresikan <i>Interferon</i> , CTL's dan sel NK. <sup>16</sup>
Lisdawati V.	Mahkota Dewa, toksisitas, efek anti oksidan, dan efek anti-kanker berdasarkan uji penapisan farmakologi. Jakarta (INA): PT <i>Phaleria macrocarpa</i> ; 2002.	<i>Phaleria macrocarpa</i> mengandung beberapa zat berupa alkaloid, terpenoid, saponin, dan terdapat senyawa aktif polyphenol berupa <i>gallic acid</i> (GA : 3,4,5-trihydroxybenzoic acid) <sup>17</sup> .
Sumastuti R,	Efek sitotoksik ekstrak buah dan	Penelitian yang dilakukan terhadap sel Hela,

- Sonlimar M. daun Mahkota Dewa terhadap sel hela. Yogyakarta: Farmakologi FK UGM; 2003. p. 1-12. menunjukkan kemampuan efek sitotoksik yang cukup kuat. *Phaleria macrocarpa* mempunyai efek sitotoksik yang bermakna dibandingkan efek sitotoksik Doxorubicin sebagai kontrol positifnya.<sup>19</sup>
- Faried A, Kurnia D, Faried L.S, Usman N, T. Miyazaki, Kato H. Anticancer effects of gallic acid isolated from Indonesian herbal medicine, *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl, on human cancer cell lines . Int j oncol 2007;30: 605-13. Pada penelitian dengan menggunakan sel kanker esofagus (TE-1) terlihat bahwa *gallic acid* (GA : 3,4,5-trihydroxybenzoic 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*. Sehingga *Phaleria macrocarpa* tidak mengganggu siklus sel serta akan meningkatkan apoptosis pada sub-populasi fase G1, dan diperkirakan bahwa *Phaleria macrocarpa* tidak berbahaya bagi sel normal.<sup>20</sup>
- Budijitno S, Issakh B, Handojo D, Purwanto D, Riwanto I. Pengaruh ekstrak mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap skor ekspresi perforin CTL dan sel-NK serta indeks apoptosis pada adenokarsinoma mamma mencit C3H. M Med Indones J 2007;42(1): 13-20. Terjadi peningkatan ekspresi perforin CTL dan sel-NK serta peningkatan indeks apoptosis sel tumor yang signifikan pada pemberian secara tunggal dosis bertingkat *Phaleria macrocarpa*.<sup>31</sup>
- Budijitno S, Issakh B, Handojo D, Purwanto D, Riwanto I. Pengaruh ekstrak mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap skor ekspresi perforin CTL dan sel-NK serta perkembangan massa tumor adenokarsinoma mamma mencit C3H. M Med Indones J 2007;42(3): 37-40. Terjadi hambatan pertumbuhan diameter tumor yang signifikan, pada kelompok yang diberikan secara tunggal dosis bertingkat *Phaleria macrocarpa*. Tidak ada kerusakan organ secara histologis yang ditimbulkan di hepar, jantung, lien dan ginjal pada kelompok yang diberikan secara tunggal dosis bertingkat *Phaleria*

*macrocarpa*<sup>32</sup>

Budijitno S, Issakh B, Handojo D, Purwanto D, Riwanto I.	Pengaruh kombinasi ekstrak mahkota dewa ( <i>Phaleria macrocarpa</i> ) dengan doxorubicin dan cyclophosphamide terhadap ekspresi VEGF dan indeks apoptosis tumor adenokarsinoma mamma mencit C3H. (in-press).	Terjadi penurunan ekspresi <i>Vascular Endothelial GrowthFactor (VEGF)</i> yang signifikan, pada kelompok yang diberikan <i>Phaleria macrocarpa</i> dengan kombinasi Adriamycin serta Cyclophosphamide. Tidak ada kerusakan organ secara histologis yang ditimbulkan di hepar, jantung, paru-paru, lien dan ginjal pada kelompok yang diberikan secara tunggal dosis bertingkat <i>Phaleria macrocarpa</i> <sup>33</sup>
--	---	--

---

Penelitian ini berbeda dengan penelitian-penelitian sebelumnya. Penelitian ini meneliti pengaruh pemberian ekstrak *Phaleria macrocarpa*, sitostatika, dan kombinasi keduanya terhadap ekspresi IL-12 karsinoma sel skuamosa dan granzyme pada mencit. Penelitian ini belum pernah dilakukan sebelumnya.

