

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Insidensi kanker kolon di seluruh dunia tahun 2008 sebanyak 1.233.700 jiwa, paling banyak terdiagnosis ketiga pada jenis kelamin pria dan terbanyak kedua pada jenis kelamin wanita dengan angka kematian sebanyak 608.700 jiwa, penyebab kematian terbanyak keempat pada pria dan ketiga pada wanita. Berdasarkan data dari *United States Cancer Statistic* sebanyak 142.950 penduduk di US terdiagnosis menderita kanker kolon baik pada pria maupun wanita, dan sebanyak 52.857 kematian terjadi akibat kanker kolon.¹ Insidensi kanker kolon lebih rendah pada negara berkembang dibandingkan dengan negara maju. Di kawasan Asia tenggara insidensi kanker kolorektal menduduki peringkat ke-10.^{2,3} Profil Kesehatan Indonesia tahun 2008 menunjukkan bahwa kanker kolon menempati urutan ke 8 dari seluruh kejadian kanker yang dirawat inap dan jumlahnya makin meningkat setiap tahunnya.⁴ Sjamsuhidajat dkk mengevaluasi data-data di Departemen Kesehatan RI mendapatkan angka insidensi 1,8 per 100.000 penduduk, sedangkan Suroto dkk membuktikan bahwa insidensi kanker kolon di Indonesia hampir sama pada setiap senter diagnosis patologis.^{5,6} Berdasarkan laporan program yang berasal dari Rumah Sakit dan Puskesmas di kota Semarang tahun 2009, kasus penyakit kanker ditemukan sebanyak 11.862 kasus dan menjadi penyebab kematian terbanyak kedua setelah penyakit jantung dan pembuluh darah pada kategori penyakit tidak menular.⁷ 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.⁸

Perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi saat ini memungkinkan penanganan kanker kolon yang lebih komprehensif. Pembedahan tetap merupakan pilihan utama pada penatalaksanaan kanker kolon yang terlokalisasi. Modalitas lainnya berupa terapi adjuvant dalam bentuk kemoterapi, dan radiasi terutama bila terdapat reseksi yang tidak adekuat maupun adanya metastasis. Penelitian tentang kemoterapi adjuvan telah banyak dilakukan dan menunjukkan kemajuan yang bermakna dalam angka *survival*.^{9,10}

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.¹¹ 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 metastatik.^{12,13} Berdasarkan revisi Daftar Pedoman Harga Obat (DPHO) tahun 2012, regimen kemoterapi kanker kolon yang masuk dalam daftar DPHO Jaminan Kesehatan Masyarakat (JAMKESMAS) adalah 5FU dan leucovorin.¹⁴

5FU bekerja secara spesifik pada siklus sel fase-S dan menginduksi kematian sel. Efek samping pemberian 5FU di antaranya mielosupresi yang lebih sering terjadi bila diberikan secara injeksi cepat, mukositis, dan diare yang

berpotensi terjadi dehidrasi, ketidakseimbangan elektrolit dan infeksi. Toksisitas mielosupresi terutama berupa leukositopenia tergantung dari status performa dan fungsi sumsum tulang sebelum pemberian 5FU.^{15,16} Pengurangan toksisitas dapat dilakukan dengan pemberian 5FU secara infus kontinyu, walaupun lebih sering menimbulkan komplikasi berupa *palmar-plantar erythrodysesthesia (hand-foot syndrome)*.¹⁷ Leucovorin dapat meningkatkan aktivitas antitumor 5FU dengan cara memperkuat inhibisi enzim *thymidylate synthase*. Berbagai penelitian *clinical trials* membuktikan efektivitas kombinasi 5FU-Leucovorin dalam hal *Disease Free Survival* maupun *Overall Survival*, dan menurunkan angka mortalitas serta rekurensi.¹⁸ Penelitian yang dilakukan Johnson dkk membuktikan bahwa pemberian kombinasi 5FU-Leucovorin memiliki toksisitas yang rendah dengan aktivitas yang tetap baik pada terapi kanker kolon.¹⁹

Penggunaan terapi alternatif terhadap sel kanker menjadi kecenderungan umum di dunia, menurut data yang didapat dari Barnes (2004) sebanyak 74,3% dari total responden 31.044 masyarakat di US menggunakan minimal satu macam terapi alternatif dan telah menghabiskan biaya total lebih dari \$27 miliar untuk pemakaian terapi alternatif.²⁰

Salah satu tanaman obat tradisional di Indonesia yang sudah banyak digunakan sebagai tanaman obat anti kanker / sitostatika yaitu *Phaleria macrocarpa* (Mahkota Dewa) 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.²¹

Penelitian yang dilakukan oleh Gangga dkk membuktikan bahwa pada daun dan kalus mahkota dewa mengandung metabolit sekunder yang sama yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, dan steroid/triterpenoid, dan terdapat senyawa aktif *polifenol* berupa *gallic acid* (GA : 3,4,5-trihydroxybenzoic acid).^{22,23,24} 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.²⁴ Penelitian yang dilakukan oleh Sumastuti dkk 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.²⁵ Selamat Budijitno dkk melakukan 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.²⁶

Senyawa *polifenol* yang terkandung dalam *herbal medicine* juga mempunyai efek memblok reseptor *growth factor*, dan menghambat *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK), pada jalur sinyal *Receptor Tyrosin Kinase*

(RTKs).^{24,25} Pada penelitian yang dilakukan oleh Hiroko Deguchi dkk, ditemukan bahwa senyawa *polifenol* yang terkandung dalam *herbal medicine* (teh hijau) mempunyai efek inhibisi pada MAPK.^{27,28} *Polifenol* juga akan memblokir berbagai RTKs, seperti *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR), *Platelet-Derived Growth Factor Receptor* (PDGF), *Fibroblast Growth Factor Receptor* (FGFR) yang sangat berperan dalam mitosis sel.²⁹

Gen p53, dikenal juga sebagai “*guardian of the genome*”, “*death star*”, “*Good and bad cop*”, sebuah fosfoprotein dengan massa molekul 53000, yang membentuk kompleks dengan antigen SV40T, terbagi menjadi dua jenis : normal atau *wild*, dan tipe mutan. Tipe *wild* terdapat di dalam nukleus dan bekerja sebagai pengendali dalam proses transkripsi beberapa gen. Tipe ini juga memiliki peranan dalam regulasi proliferasi sel dan tumor supresor. Gen p53 tipe *wild* akan terakumulasi dalam DNA dan menstimulasi sel untuk berhenti di fase G1, memberi kesempatan sel tersebut untuk memperbaiki kerusakan yang terjadi. Jika kerusakan DNA tidak dapat diperbaiki, p53 akan “membimbing” sel tersebut mengalami apoptosis.²⁹

Gen p53 akan bekerja dengan WAF-1/CIP-1, inhibitor *cyclin-dependent kinase*, dimana WAF-1 akan berikatan dan menghambat kerja berbagai *cyclin-dependent kinase*, sehingga mencegah sel tersebut keluar dari siklus G1. Pada tumor, hilangnya fungsi dari *wild* p53 akan menghilangkan kontrol atas jalur pertumbuhan ini dan berperan dalam pertumbuhan sel tumor yang tidak terkendali. Secara kontras, *cyclin-D1* berperan sebagai regulator positif untuk transisi dari fase G1 ke fase S dengan berikatan dan mengalami aktivasi dengan

ikatan *cyclin-D1-dependent kinase*. Oleh karena itu, hilangnya fungsi *wild p53* dan ekspresi berlebihan dari *cyclin-D1* dapat memiliki efek yang sama pada siklus sel, yaitu hilangnya fungsi kontrol pertumbuhan pada fase G1.²⁹

Studi *in vivo* berupa pengaruh pemberian ekstrak *Phaleria macrocarpa* terhadap kanker kolon khususnya pengaruhnya pada ekspresi *cyclin-D1* dan p53 pada kanker kolon tikus belum pernah dilakukan. Peneliti berusaha membuktikan efek pemberian ekstrak *Phaleria macrocarpa* terhadap ekspresi *cyclin-D1* dan p53 pada kanker kolon tikus. Penelitian ini akan melihat pengaruh ekstrak *Phaleria macrocarpa* dalam dosis bertingkat terhadap ekspresi *cyclin-D1* dan p53 pada tikus *Sprague dawley* dengan kanker colon. Dosis bertingkat yang diberikan adalah 0,495 mL/hari. Dosis yang diberikan berdasarkan penyesuaian dosis yang telah digunakan pada manusia dan dikalikan konstanta uji terapi pada hewan tikus. Pemberian dosis bertingkat dimaksudkan untuk mengetahui dosis yang berpotensi meningkatkan ekspresi *cyclin-D1* dan p53 pada kanker kolon tikus.

Penggunaan metode Kato pada penelitian ini bertujuan untuk menghilangkan subyektifitas dari peneliti karena perhitungan dilakukan tanpa memperhatikan intensitas pewarnaan pada sediaan.

Karena masih kurangnya penelitian yang menguji efek pemberian *Phaleria Macrocarpa* terhadap ekspresi *cyclin-D1* dan p53 pada kanker kolorektal, mendorong penulis untuk melakukan penelitian ini sebagai uji eksperimental terhadap tikus *Sprague dawley*. Penelitian ini merupakan penelitian payung untuk melengkapi manfaat *Phaleria macrocarpa* pada terapi keganasan yang dilakukan dengan menggunakan binatang percobaan.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah *Phaleria Macrocarpa* dapat meningkatkan imunitas seluler tikus *Sprague dawley* dengan adenokarsinoma kolon melalui penurunan ekspresi *cyclin-D1* dan peningkatan ekspresi p53?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum:

Membuktikan pemberian 5-FU dan Leucovorin dan ekstrak *Phaleria Macrocarpa* memberikan efek imunostimulator terhadap imunitas seluler dan antitumor pada tikus *Sprague dawley* dengan adenokarsinoma kolon.

1.3.2 Tujuan Khusus:

1. Menganalisis penurunan prosentase ekspresi *cyclin-D1* dan peningkatan prosentase ekspresi p53 pada tikus *Sprague dawley* dengan kanker kolon yang diberikan kombinasi ekstrak *Phaleria macrocarpa* dan kemoterapi 5-FU dan Leucovorin dibanding dengan yang hanya mendapat kemoterapi 5-FU dan Leucovorin.
2. Menganalisis korelasi perbedaan prosentase ekspresi *cyclin-D1* dan p53 pada tikus *Sprague dawley* dengan kanker kolon yang diberikan kombinasi *Phaleria Macrocarpa* dan kemoterapi dibanding hanya diberikan kemoterapi.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi keilmuan tentang imunologi dan pengobatan tradisional herbal, khususnya ekstrak *Phaleria macrocarpa* dalam bidang onkologi, terutama kanker kolorektal.
2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai efek sinergis pemberian *Phaleria macrocarpa* pada terapi utama kanker kolon 5FU-leucovorin.
3. Jika memang didapat sinergi di antara *Phaleria macrocarpa* dengan 5FU-leucovorin, maka *Phaleria macrocarpa* dapat dipergunakan sebagai ajuvan/tambahan pada terapi utama kanker kolon 5FU-leucovorin.
4. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi landasan untuk penelitian lebih lanjut mengenai pengelolaan kanker kolon pada manusia.

1.5 Keaslian Penelitian

Penelitian ini berbeda dari sebelumnya karena pada penelitian ini dilakukan pemberian ekstrak *Phaleria macrocarpa* terhadap kanker kolon disertai pemberian kemoterapi 5FU-leucovorin. Variabel yang diteliti yaitu ekspresi ekspresi *cyclin-D1* dan p53 pada tikus *Sprague Dawley* dengan kanker kolon.

Peneliti	Jurnal	Judul	Kesimpulan
Peter , G. Rose, A. Blessing John, M. Gershenson	American Society of Clinical Oncology 17 (1999): 2676-	Paclitaxel and Cisplatin as First- Line Therapy in Recurrent or Advanced	Kombinasi paclitaxel dan cisplatin memiliki keuntungan pada tingkat respon tetapi

David, McGehee Ramon, and Clin J Oncol.	80.	Squamous Cell Carcinoma of the Cervix: A Gynecologic Oncology Group Study.	ini berkaitan dengan moderat toksisitas dibandingkan dengan rejimen kombinasi yang sebelumnya dipelajari oleh <i>Gynecologic Oncology Group</i> pada karsinoma sel skuamosa cervix.
Riwanto I., Budijitno S., Dharmana E., Handojo D., Prasetyo SA, Eko A, Suseno D	International surgery journal Pubmed.gov April – Juni 2011	Effect of <i>Phaleria macrocarpa</i> supplementation on apoptosis and tumor growth of C3H mice with breast cancer under treatment with adriamycin-cyclophosphamide.	Suplementasi <i>Phaleria macrocarpa</i> 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
Guan-Cheng Huang, Shyun-Yeu Liu, Mei-Huei Lin, Yung-Yen Kuo and Young-Chau Liu	Jpn J Clin Oncol 2004.	The Synergistic Cytotoxicity of Cisplatin and Taxol in Killing Oral Squamous Cell Carcinoma	Didapatkan sinergistik antara paclitaxel dan cisplatin pada karcinoma epidermoid didapatkan efek sinergistik yang lebih besar dibandingkan dengan efek protektif. Efek sinergistik sitotoksik ini didapat dengan konsentrasi yang rendah dari paclitaxel

Lucie Widowati	Jurnal Bahan Alam Indonesia ISSN 1412-2855 Vol. 4, No. 1, Januari 2005	Kajian hasil penelitian mahkota dewa	Dari hasil uji toksisitas BLST buah mahkota dewa termasuk kategori toksik, sehingga dapat dianggap bersifat sitotoksik untuk sel kanker
Budijitno S., Handojo D., Issakh B., Riwanto I.	Media Medika Indonesiana : vol. 42 : Desember 2007	Pengaruh Ekstrak <i>Phaleria Macrocarpa</i> terhadap Skor Ekspresi Perforin CTL dan Sel-NK serta Perkembangan Masa Tumor Adenokarsinoma Mamma Mencit C3H	Peningkatan pemberian dosis <i>Phaleria macrocarpa</i> akan meningkatkan ekspresi perforin CTL dan sel-NK, sampai pada dosis tertentu peningkatan ekspresi perforinnya menjadi tidak bermakna. Ekspresi perforin berhubungan negatif dengan perkembangan massa tumor.
Suryanto T.	Undip.ac.id 2007	Pengaruh Pemberian Ekstrak <i>Phaleria Macrocarpa</i> terhadap indeks apoptosis sel adenocarcinoma mamma dan Perkembangan Massa Tumor Payudara Mencit C3H	Pemberian <i>Phaleria macrocarpa</i> menyebabkan hambatan perkembangan massa tumor adenokarsinoma mamma pada mencit C3H dengan dosis 0,035 mg/hari

Dari penelitian-penelitian tersebut belum ada yang pernah meneliti pengaruh pemberian ekstrak *Phaleria Macrocarpa* terhadap ekspresi ekspresi *cyclin-D1* dan

p53 pada tikus *Sprague dawley* dengan kanker kolon yang diberikan kemoterapi 5-FU dan Leucovorin.