

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **1.1. Latar Belakang**

Kanker kolon merupakan penyebab kematian tersering kedua di negara barat, tahun 2013 di negara Amerika saja diperkirakan lebih dari 140.000 kasus baru didapatkan 50.000 kasus kematian. (American Cancer Society 2013), 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<sup>1</sup>. 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.<sup>2</sup> Berdasarkan laporan program yang berasal dari Rumah Sakit dan Puskesmas di kota Semarang tahun 2009, kasus penyakit kanker yang ditemukan sebanyak 11.862 kasus dan menjadi penyebab kematian terbanyak kedua setelah penyakit jantung dan pembuluh darah pada kategori penyakit tidak menular<sup>3</sup>. 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>4</sup>

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>5</sup>

5FU merupakan analog *fluoropyrimidine* yang bekerja secara spesifik pada siklus sel fase-S dan menginduksi kematian sel. Leucovorin merupakan folat tereduksi yang dapat meningkatkan aktivitas antitumor 5FU. Penelitian yang dilakukan di Inggris membuktikan bahwa pemberian kombinasi 5FU-Leucovorin memiliki toksisitas yang rendah dengan aktivitas yang tetap baik pada terapi kanker kolon.<sup>7</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. Salah satu tanaman obat tradisional yang sudah banyak digunakan sebagai tanaman obat anti kanker / sitostatika yaitu *Phaleria macrocarpa* (Mahkota Dewa) yang mempunyai efek dapat menghambat pertumbuhan sel tumor, sebagai tanaman obat sitostatika yang masih memerlukan suatu pembuktian.<sup>12</sup>

Penelitian mengenai analisis pendahuluan metabolit sekunder dari Mahkota 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).<sup>10,11,12</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>13</sup> Penelitian sebelumnya juga telah membuktikan bahwa tidak terdapat kerusakan organ hepar, jantung, lien dan ginjal secara histopatologis pada pemberian *Phaleria macrocarpa*.<sup>9</sup>

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).<sup>12,13</sup> Pada penelitian terhadap kanker payudara ditemukan bahwa senyawa *polifenol* yang terkandung dalam *herbal medicine* (teh hijau) mempunyai efek inhibisi pada MAPK.<sup>14</sup> *Polifenol* juga akan memblok berbagai RTKs, seperti *Epidermal Growth Factor Receptor* (EGFR), *Platelet-Derived Growth Factor Receptor* (PDGF), *Fibroblast Growth Factor Receptor* (FGR.) yang sangat berperan dalam mitosis sel.<sup>15</sup>

Peranan sel-sel fagosit dan sitolitik dalam imunologi tumor banyak menarik perhatian para peneliti. Sel imun lini pertama yang berada disekitar sel kanker dan berperan dalam perondaan terhadap kanker adalah limfosit T sitotoksik (CTL), Sel NK (*Natural Killer*) dan makrofag. Setelah mengenal

sel kanker sebagai sel asing, ketiga sel imun tersebut akan menghancurkan sel kanker. Aktivitas sel-sel tersebut melibatkan sitokin-sitokin yang akan memacu aktivitasnya terhadap sel-sel tumor. Salah satu sitokin yang penting adalah Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ). IFN- $\gamma$  adalah aktivator yang kuat untuk sel-sel fagosit mononuklear, dapat meningkatkan ekspresi baik *major histocompatibility complex-I* (MHC-I) maupun *major histocompatibility complex -II* (MHC-II), meningkatkan sel T untuk berdiferensiasi dan memacu aktivitas sitolitik dari sel-sel NK yang sangat berperan pada imunologi tumor.<sup>16</sup>

Penelitian pasien dengan kanker kolon, terdapat bukti bahwa pada pengecatan sederhana potongan tumor adanya infiltrasi limfosit dalam tumor berhubungan dengan peningkatan survival. Dengan adanya teknik pengecatan immunohitokimia semakin membuktikan bahwa peningkatan infiltrasi limfosit T CD4+ dan CD8+ berhubungan dengan peningkatan survival pasien dengan kanker kolon.<sup>30,31</sup>

Penelitian yang dilakukan di Cina mengamati bahwa pada pasien keganasan didapatkan NK sel yang abnormal baik dari segi kemampuan sitotoksitasnya, kurang efektifnya ekspresi dari reseptor aktifasinya, sinyal molekul intra selulernya, ekspresi yang berlebihan dari reseptor inhibisinya, gangguan di proliferasinya, bahkan kadarnya yang menurun di darah perifer dan jaringan yang terinfiltrasi oleh tumor, serta produksi cytokin yang kurang efektif, sehingga NK sel memegang peranan penting dalam

mekanisme pertahanan tubuh tingkat pertama baik melalui mekanisme langsung atau tidak langsung.<sup>32</sup>

Sel NK pada adenokarsinoma mamma yang dikombinasi dengan ekstrak mahkota dewa dengan dosis 5mg yang dikonversi ke binatang coba pernah diteliti sebelumnya oleh Slamet B (konversi dosis dapat dilihat pada halaman 58 dan 95), dan digunakan juga sebagai dasar pada penelitian ini, disebutkan bahwa ada peningkatan ekspresi perforin sitolitik limfosit T (CTL) dan sel NK.<sup>70</sup> Penelitian yang dilakukan oleh T Kantola et al di Finlandia mengenai perubahan sitokin pada kanker kolorectal menyebutkan bahwa meningkatnya kadar interferon  $\gamma$  dikaitkan dengan prognosis yang lebih baik. (british journal cancer 2012, 107, 1729-1736).

Peranan sistem imun tersebut kemungkinan dapat ditingkatkan dengan pemberian imunomodulator yang dapat meningkatkan respon imunitas seluler. Saat ini telah tersedia imunomodulator di pasaran baik dalam bentuk obat maupun minuman suplemen yang dapat diperoleh dengan harga murah. Imunomodulator tersebut adalah *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 dapat memacu makrofag untuk menghasilkan sitokin yang akan membantu regulasi sistem imun<sup>9</sup>

Penelitian-penelitian terhadap beberapa jenis tikus yang diberi *1,2-dimethylhydrazine* (DMH) dengan rentang dosis 20-65 mg/kgBB/minggu

secara injeksi subkutan selama 12-24 minggu, setelah 14-16 minggu didapatkan perkembangan tumor kolon dengan jenis adenokarsinoma.<sup>17,19</sup>

Studi *in vivo* berupa pengaruh pemberian ekstrak buah *Phaleria macrocarpa* terhadap kanker kolon yang di terapi dengan 5fu-lecoverin khususnya pengaruhnya pada densitas sel-NK dan ekspresi IFN- $\gamma$  belum pernah dilakukan. Penelitian ini akan melihat pengaruh ekstrak buah *Phaleria macrocarpa* terhadap densitas sel-NK dan ekspresi IFN- $\gamma$  pada kanker kolon tikus *Sprague dawley* yang diberi kemoterapi 5FU-Leucovorin.

## 1.2. Rumusan Masalah

### 1.2.1. Masalah Umum

Apakah *Phaleria macrocarpa* dapat meningkatkan densitas sel-NK dan ekspresi IFN- $\gamma$  pada sel kanker kolon tikus *Sprague dawley* yang diterapi dengan 5FU-Leucovorin?

### 1.2.1 Masalah Khusus

1. Apakah terdapat peningkatan densitas sel-NK dari sel jaringan tumor kanker kolon tikus *Sprague dawley* yang dikemoterapi 5FU-Leucovorin saat dikombinasi dengan ekstrak *Phaleria macrocarpa* dibanding dengan yang tidak mendapat ekstrak *Phaleria macrocarpa* ?
2. Apakah terdapat peningkatan ekspresi IFN- $\gamma$  dari sel jaringan tumor kanker kolon tikus *Sprague dawley* yang dikemoterapi 5FU-Leucovorin saat dikombinasi dengan ekstrak *Phaleria*

*macrocarpa* dibanding dengan yang tidak mendapat ekstrak *Phaleria macrocarpa* ?

3. Apakah terdapat korelasi antara densitas sel-NK dan ekspresi IFN- $\gamma$  dari sel jaringan tumor kanker kolon tikus *Sprague dawley* yang diberi kemoterapi 5FU-Leucovorin saat dikombinasi dengan ekstrak *Phaleria macrocarpa*?

### **1.3. Tujuan Penelitian**

#### 1.3.1. Tujuan Umum

Membuktikan bahwa *Phaleria macrocarpa* dapat meningkatkan densitas sel-NK dan ekspresi IFN- $\gamma$  dari sel kanker kolon tikus *Sprague dawley* yang diterapi 5FU-Leucovorin.

#### 1.3.2. Tujuan Khusus

1. Membuktikan adanya peningkatan densitas sel-NK pada kanker kolon tikus *Sprague dawley* yang mendapat kemoterapi 5FU-Leucovorin saat dikombinasi dengan ekstrak *Phaleria macrocarpa* dibanding dengan yang tidak mendapat ekstrak *Phaleria macrocarpa*.
2. Membuktikan adanya peningkatan ekspresi IFN- $\gamma$  pada kanker kolon tikus *Sprague dawley* yang mendapat kemoterapi 5FU-Leucovorin saat dikombinasi dengan ekstrak *Phaleria macrocarpa* dibanding dengan yang tidak mendapat ekstrak *Phaleria macrocarpa*

3. Menganalisis korelasi antara densitas sel-NK dengan peningkatan ekspresi IFN- $\gamma$  pada kanker kolon pada tikus *Sprague dawley* yang diberi kemoterapi 5FU-Leucovorin saat dikombinasi dengan *Phaleria macrocarpa*.

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

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan informasi mengenai manfaat penggunaan ekstrak *Phaleria macrocarpa* dalam terapi penderita kanker kolon melalui peningkatan respon imun seluler.
2. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi landasan untuk penelitian lebih lanjut mengenai pengelolaan penderita kanker kolon.
3. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah informasi keilmuan tentang pemanfaatan obat herbal, khususnya *Phaleria macrocarpa* dalam pengobatan kanker, terutama kanker kolon.

#### **1.5. Keaslian Penelitian**

Penelitian ini berbeda dari sebelumnya, dalam penelitian ini untuk menimbulkan kanker colon, sebanyak 20 ekor tikus putih strain *Sprague dawley* dilakukan proses adaptasi selama 1 minggu, hewan coba diinduksi dengan karsinogen *1,2-dimethylhidrazine* dengan dosis 30 mg/kgBB/minggu injeksi subkutan selama 15 minggu, kemudian setelah tumbuh tumor pada tikus putih strain *Sprague dawley* lalu diberikan perlakuan dengan pemberian ekstrak *Phaleria macrocarpa* dengan dosis 0,495 mg /hari (0,99 mL /hari/peroral) disertai pemberian kemoterapi 5FU-Leucovorin dengan dosis 0,27 mg iv perminggu sekali sesuai rosswell park



regiment. Pada minggu ke-23 dilakukan terminasi, dilanjutkan isolasi jaringan kanker kolon, dan pembuatan sediaan histopatologi Variabel yang diteliti yaitu densitas sel-NK dan ekspresi IFN- $\gamma$  dengan pemeriksaan IHC dari tumor kanker kolon.

Selamat B, Benny I, Dwi P, Djoko H, Riwanto I.	Pengaruh ekstrak mahkota dewa ( <i>Phaleria macrocarpa</i> ) terhadap perkembangan massa tumor kanker mamma mencit C3H. M Med Indones J 2007;42(3): 37-40.	Invivo	Terjadi hambatan pertumbuhan diameter tumor yang signifikan, pada kelompok yang diberikan secara tunggal dosis bertingkat <i>Phaleria macrocarpa</i> . Tidak ada kerusakan organ secara histologis yang ditimbulkan di hepar, jantung, lien dan ginjal pada kelompok yang diberikan secara tunggal dosis bertingkat <i>Phaleria macrocarpa</i> . <sup>51</sup>
Pramito A	Pengaruh Ekstrak Buah Mahkota Dewa ( <i>Phaleria macrocarpa</i> ) terhadap mitosis dan Pertumbuhan Massa Tumor Kanker Mamma Mencit C3H, Master Thesis, Universitas Diponegoro, 2008	Invivo	Terdapat hambatan perkembangan massa tumor yang bermakna mulai pemberian dosis 0,035 mg/hari, peningkatan dosis tidak mempunyai efek yang bermakna, dan terdapat korelasi asimetrik positif bermakna ( $p < 0,001$ , $r = 0,872$ ) antara peningkatan indeks mitosis dengan perkembangan massa tumor.
Gangga E, Asriani H, Novita L	Analisis Pendahuluan Metabolit Sekunder dari Kalus Mahkota Dewa ( <i>Phaleria macrocarpa</i> [Scheff.] Boerl.). Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia, vol 3, no 1; April, 2007; 17-22	Invitro	Daun dan kalus mahkota dewa mengandung metabolit sekunder yang sama yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, dan steroid/triterpenoid, dan terdapat senyawa aktif <i>polifenol</i> berupa gallic acid (GA : 3,4,5-trihydroxybenzoic acid).
Kusmardiyani S, Nawawi A, Rahmi K,	Isolasi benzofenon dari daun Mahkota Dewa [ <i>Phaleria macrocarpa</i> (Scheff.) Boerl.]. Acta Pharmaceutica Indonesia 29, 2004; 150-152.	Invitro	Polifenol pada <i>Phaleria macrocarpa</i> memblokir berbagai RTKs, seperti <i>Epidermal Growth Factor Receptor</i> (EGFR), <i>Platelet-Derived Growth Factor Receptor</i> (PDGF), <i>Fibroblast Growth Factor Receptor</i> (FGR.) yang sangat berperan dalam mitosis sel.
Faried A, Kurnia D, Faried LS, Usman N, Miyazaki T, Kato H.	Anticancer effects of gallic acid isolated from Indonesian herbal medicine, <i>Phaleria macrocarpa</i> (Scheff.) Boerl, on human cancer cell lines . Int j oncol 2007;30: 605-13.	Invivo	Penelitian sel kanker esofagus (TE-1) bahwa <i>gallic acid</i> (GA : 3,4,5-trihydroxybenzoic acid) meningkatkan pro apoptosis Bax, menurunkan anti apoptosis Bcl-2 yg akan meningkatkan inisiasi apoptosis. Tetapi pada sel non-kanker (CHEK-1) terjadi hambatan protein pro apoptosis & tdk terjadi penurunan ekspresi protein <i>survival</i> , jadi <i>Phaleria macrocarpa</i> tdk mengganggu siklus sel & tdk berbahaya bagi sel normal. <sup>17</sup>