

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Insidensi kanker kolon di seluruh dunia tahun 2008 sebanyak 1.233.700 jiwa, ke-3 terbanyak pada laki-laki, dan terbanyak ke-2 pada perempuan dengan angka kematian sebanyak 608.700 jiwa, penyebab kematian terbanyak ke-4 pada laki-laki dan ke-3 pada perempuan. Berdasarkan data dari *United States Cancer Statistic*, sebanyak 142.950 penduduk Amerika Serikat (AS) terdiagnosis kanker kolon, dengan 52.857 kematian akibat kanker kolon.<sup>1</sup> Negara berkembang, insidensi kanker kolon lebih rendah dibandingkan dengan negara maju. Kawasan Asia Tenggara insidensi kanker kolorektal menduduki peringkat 10.<sup>2,3</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>4</sup> Data Departemen Kesehatan RI mencatat angka insidensi kanker kolon sebanyak 1,8 per 100.000 penduduk, sedangkan data tentang kanker gastrointestinal yang terbaru menunjukkan bahwa insidensi kanker kolon di Indonesia hampir sama pada setiap pusat diagnosis patologis.<sup>5,6</sup> Berdasarkan laporan dari Rumah Sakit dan Puskesmas di kota Semarang tahun 2009, kasus kanker yang ditemukan sebanyak 11.862, dan menjadi penyebab kematian terbanyak ke-2 setelah penyakit jantung, dan pembuluh darah, pada kategori penyakit tidak menular.<sup>7</sup> Kota Semarang, kanker kolorektal menempati peringkat ke-2 dari seluruh kanker terbanyak pada laki-laki setelah kanker paru, sedangkan pada perempuan merupakan nomor 3 setelah kanker serviks dan payudara.<sup>8</sup>

Kunci utama keberhasilan penanganan kanker kolon adalah ditemukannya kasus dalam stadium dini, sehingga dapat dilakukan terapi operasi kuratif. Sebagian besar penderita di Indonesia datang dalam stadium lanjut, sehingga angka keberhasilan terapi rendah. Metode skrining yang dikembangkan pihak asuransi di negara maju membuat angka kematian kanker kolon turun drastis, sehingga penderita lebih mudah ditangani dan menghasilkan peningkatan *5-years survival rate*. Angka *5-years survival rate* kanker kolon stadium dini berkisar antara 67-74%.<sup>9,10</sup>

Perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi memungkinkan penanganan komprehensif kanker kolon saat ini. Pilihan utama penatalaksanaan kanker kolon yang terlokalisasi adalah pembedahan. Modalitas lainnya, berupa terapi adjuvan dalam bentuk kemoterapi. Dan radiasi, diperlukan bila terdapat reseksi yang tidak adekuat maupun adanya metastasis. Penelitian tentang kemoterapi adjuvan telah banyak dilakukan dan menunjukkan kemajuan yang bermakna dalam angka keberhasilannya. 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 yang lebih lanjut atau metastasis.<sup>11</sup> Regimen kombinasi 5FU-*Leucovorin* memiliki angka *DFS* (*Disease Free Survival*) >3 tahun antara 71-73%, dan angka *survival* >3 tahun antara 82-83% pada kanker kolon stadium II dan III, serta angka respon antara 20-30% dengan *median survival* 12-18 bulan pada kanker kolon metastatik.<sup>12,13</sup>

Regimen 5-FU merupakan analog *fluoropyrimidine* yang bekerja secara spesifik pada siklus sel fase-S, dan menginduksi kematian sel. Efek samping pemberian 5FU berupa 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.<sup>14,15</sup> Selain itu, untuk mengurangi toksisitas dapat dilakukan dengan pemberian infus 5FU secara kontinyu, akan tetapi lebih sering terjadi komplikasi berupa *palmar-plantar erythrodysesthesia (hand-foot syndrome)*.<sup>16</sup> *Leucovorin* merupakan folat tereduksi yang dapat meningkatkan aktivitas antitumor 5FU dengan cara memperkuat inhibisi enzim *thymidylate synthase*. Berbagai penelitian *clinical trials* membuktikan efektivitas kombinasi 5FU-*Leucovorin* dalam hal DFS maupun *Overall Survival (OS)*, dan menurunkan angka mortalitas serta rekurensi.<sup>17</sup> 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>18</sup>

Modalitas terapi kanker kolon lainnya yang sedang banyak dikembangkan saat ini adalah imunoterapi, yaitu dengan memodulasi sistem kekebalan tubuh terhadap tumor, dengan harapan dapat membunuh sel-sel kanker yang tersebar secara sistemik setelah terapi definitif lokal. Menurut survei *Datamonitor 2002*, sekitar 80% pasien kanker menggunakan terapi komplementer/alternatif, dan cenderung meningkat.<sup>19</sup> Menurut data yang didapat dari AS sebanyak 74,3% dari total responden 31.044 masyarakat AS menggunakan minimal 1 macam terapi komplementer.<sup>19,20</sup> Survei yang melibatkan 36 pasien kanker payudara mengungkapkan bahwa motivasi pasien menggunakan terapi komplementer/alternatif yaitu : membantu tubuh dalam proses penyembuhan (75%), meningkatkan sistem kekebalan tubuh (56%), dan membuat

merasa berbuat sesuatu dalam terapinya (56%). Sebanyak 88% responden menggunakan terapi komplementer/alternatif ini bersama dengan terapi medis.<sup>19,21,22,23,24</sup>

Terapi komplementer dan alternatif merupakan istilah umum terhadap berbagai praktik ataupun produk yang umumnya tidak dianggap bagian terapi medis/konvensional. Terapi komplementer merupakan terapi tambahan di luar terapi utama (medis) dan berfungsi sebagai terapi pendukung untuk mengontrol gejala, meningkatkan kualitas hidup, dan berkontribusi terhadap penatalaksanaan pasien secara keseluruhan. Terapi alternatif merupakan terapi pengganti dari terapi utama/medis dan pasien tidak menjalani terapi medis. Penggunaan terapi komplementer sangat banyak membantu dalam terapi kanker, dalam mengurangi keluhan dan gejala, serta meningkatkan kualitas hidup penderita kanker. Kebanyakan departemen onkologi menyediakan konsultasi dan terapi komplementer.<sup>25</sup> Salah satu tanaman obat tradisional di Indonesia yang sudah banyak digunakan sebagai tanaman obat anti kanker yaitu *Phaleria macrocarpa* (Mahkota Dewa) yang mempunyai efek dapat menghambat pertumbuhan sel tumor. *Phaleria macrocarpa* telah banyak digunakan dan dijual di pasar bebas sebagai obat anti kanker dengan dosis 5 gram sehari dalam bentuk sediaan kering.<sup>19,21,22,23,24</sup>

Ekstrak daging dan kulit buah PM mengandung beberapa zat berupa alkaloid, terpenoid, saponin, dan senyawa aktif polifenol berupa *gallic acid* (*GA* : *3,4,5-trihydroxybenzoic acid*).<sup>24</sup> Pada penelitian lain juga ditemukan pada daun dan kalus PM.<sup>25,26,27</sup> 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*. *Gallic acid* juga akan mengurangi *survival* dari *pathway Akt/mTOR* yang akan meningkatkan inisiasi *apoptosis*, sebaliknya pada sel non-kanker (CHEK-1) terjadi hambatan protein pro *apoptosis*, dan tidak terjadi penurunan ekspresi protein *survival*.<sup>28</sup> Penelitian sebelumnya juga telah membuktikan

bahwa tidak terdapat kerusakan organ hepar, jantung, lien, dan ginjal secara histopatologis pada pemberian PM. Penelitian yang dilakukan terhadap sel Hela, memberikan hasil bahwa PM mempunyai efek sitotoksik yang cukup kuat. Efek sitotoksik PM mendekati efek sitotoksik *doxorubicin* sebagai kontrol positifnya.<sup>22</sup> *Phaleria macrocarpa* juga tidak mengganggu siklus sel serta akan meningkatkan apoptosis pada sub-populasi fase G1, sehingga diperkirakan bahwa PM tidak berbahaya bagi sel normal.<sup>22</sup>

*Phaleria macrocarpa* tidak hanya bekerja secara spesifik pada saat sel mengalami mitosis.<sup>24</sup> Setelah GA mengalami metabolisme, dalam plasma akan ditemukan metabolitnya berupa *4-O-methylgallic acid* (4OMGA), *pyrogallol* (PY), *2-O-methylpyrogallol* (2OMPY), dan *resorcinol* (RE). Sedangkan, 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 GA.<sup>23</sup>

Sistem imun dapat mengenali dan menghancurkan sel kanker, dan merupakan pertahanan yang penting dalam melawan kanker.<sup>29</sup> Sebaran limfosit disekitar sel kanker akan menyebabkan penurunan kecepatan pertumbuhan sel kanker. Pada penelitian *in vitro* adanya sel sistem imun disekitar sel kanker menyebabkan kematian sel kanker.<sup>8</sup> Sel imun khususnya makrofag, limfosit T sitotoksik (CTL), dan sel NK (*Natural Killer*) berperan dalam *immuno surveillance* terhadap sel kanker. Setelah pengenalan sel kanker sebagai sel asing, sel-sel imun tersebut akan menghancurkan sel kanker.<sup>8,9,10</sup>

Interleukin 12 menjadi mediator perantara dari aktivitas sitotoksik dari sel NK dan CTL CD 8+. Kelihatan menjadi ikatan antara IL-12 dan signal transduksi pada sel NK. Diikuti, sintesis protein. IL-12 juga mempunyai aktivitas *anti-angiogenic*, itu berarti bisa menghambat pembentukan pembuluh darah baru. Sebuah penelitian *Gamaleya Institute of Microbiology and*

*Epidemiology*, Moskow, Russia, dan *Chittaranjan National Cancer Institute*, Kolkata, India, beberapa peneliti – yang meneliti efek kandungan polifenol pada obat herbal – mengemukakan bahwa polifenol alamiah dapat menstimulasi produksi Interferon- $\gamma$  (IFN-  $\gamma$ ) dan IL-12 dalam suatu populasi imunosit, yang sangat penting dalam memacu aktivasi makrofag (untuk mengekspresikan *Tumor Necrosis Factor* (TNF)), CTL, dan sel NK yang berperan besar dalam *immuno survailance* terhadap kanker, setelah sel kanker dikenal sebagai sel asing, sel imun tersebut akan menghancurkan sel kanker.<sup>30,31</sup>

Studi *in vivo* berupa pengaruh pemberian ekstrak buah PM terhadap kanker kolon, khususnya pengaruhnya pada ekspresi IL-12 dan sebaran limfosit di sekitar massa tumor belum pernah dilakukan. Peneliti berusaha membuktikan efek pemberian ekstrak buah PM terhadap ekspresi IL-12 dan sebaran limfosit di sekitar massa tumor. Penelitian ini akan melihat pengaruh ekstrak daging buah PM terhadap ekspresi IL-12 dan sebaran limfosit di sekitar massa tumor kanker kolon tikus *Sprague dawley*. Dosis yang diberikan adalah 0,495 mg/hr. Dosis yang diberikan berdasarkan penyesuaian dosis yang telah digunakan pada manusia dan dikalikan konstanta uji terapi pada hewan tikus. Penelitian ini juga ingin melihat pengaruh pemberian ekstrak buah PM terhadap ekspresi IL-12 dan sebaran limfosit di sekitar massa tumor pada kanker kolon tikus *Sprague dawley* yang diberi kemoterapi *5FU-Leucovorin*.

## **1.2. Rumusan Masalah**

Dari uraian diatas, kami dapat simpulkan beberapa permasalahan yaitu:

1. Apakah terdapat ekspresi IL-12 yang lebih banyak pada kelompok tikus *Sprague dawley* dengan kanker kolon yang diberi kemoterapi *5FU-Leucovorin* bersama PM

dibandingkan pada kelompok tikus *Sprague dawley* dengan kanker kolon yang diberi kemoterapi *5FU-Leucovorin* saja?

2. Apakah terdapat jumlah sebukan limfosit di sekitar massa tumor yang lebih banyak pada kelompok tikus *Sprague dawley* dengan kanker kolon yang diberi kemoterapi *5FU-Leucovorin* bersama PM dibandingkan pada kelompok tikus *Sprague dawley* dengan kanker kolon yang diberi kemoterapi *5FU-Leucovorin* saja?
3. Apakah terdapat hubungan antara jumlah ekspresi IL-12 dengan jumlah sebukan limfosit di sekitar massa tumor pada kelompok tikus *Sprague dawley* dengan kanker kolon yang diberi kemoterapi *5FU-Leucovorin* bersama PM?

### **1.3. Tujuan Penelitian**

#### 1.3.1. Tujuan umum :

Membuktikan khasiat ekstrak PM sebagai terapi komplementer *5FU-Leucovorin* meningkatkan ekspresi IL-12 dan jumlah sebukan limfosit di sekitar massa tumor pada kanker kolon tikus *Sprague dawley*.

#### 1.3.2. Tujuan khusus :

1. Membuktikan pemberian kombinasi *5FU-Leucovorin* bersama PM meningkatkan ekspresi IL-12 pada kelompok tikus *Sprague dawley* dengan kanker kolon.

2. Membuktikan pemberian kombinasi pemberian *5FU-Leucovorin* bersama PM meningkatkan jumlah sebukan limfosit di sekitar massa tumor pada kelompok tikus *Sprague dawley* dengan kanker kolon.
3. Menganalisis hubungan antara jumlah ekspresi IL-12 dengan jumlah sebukan limfosit di sekitar massa tumor pada tikus *Sprague dawley* dengan kanker kolon yang diberi kombinasi pemberian pemberian *5FU-Leucovorin* bersama ekstrak PM.

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

1. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi bahan informasi mengenai manfaat penggunaan ekstrak PM dalam terapi penderita kanker kolon.
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 PM dalam pengobatan kanker, terutama kanker kolon.

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

Penelitian ini berbeda dari sebelumnya karena pada penelitian ini dilakukan pemberian ekstrak PM terhadap kanker kolon disertai pemberian kemoterapi *5FU-Leucovorin*. Variabel yang diteliti yaitu IL-12 dan sebukan limfosit di sekitar massa tumor, akan dilihat keterkaitan kenaikan ekspresi IL-12 dengan jumlah sebukan limfosit di sekitar massa tumor kolon adenokarsinoma pada tikus *Sprague dawley* dengan kanker kolon adenokarsinoma (hasil induksi

dengan 1,2-DMH) yang diberikan kemoterapi 5FU-*Leucovorin* bersama ekstrak PM. Berikut adalah referensi yang menjadi rujukan penelitian ini:

Penulis	Judul / Penerbit	Hasil
Tim Editorial PT. Sidomuncul.	Aneka resep mahkota dewa. Nutrend Mahkota Dewa. Jakarta (INA): PT. Sidomuncul; 2007 <a href="http://smallcrab.com/index.php?option=com_content&amp;task=view&amp;id=67&amp;Itemid=2">http://smallcrab.com/index.php?option=com_content&amp;task=view&amp;id=67&amp;Itemid=2</a>	<i>Phaleria macrocarpa</i> telah diproduksi sebagai jamu dengan dosis 5 gram crude per hari.
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	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,	Isolasi benzofenon dari daun Mahkota Dewa [ <i>Phaleria macrocarpa</i> (Scheff.) Boerl.].	Polifenol pada <i>Phaleria macrocarpa</i> memblok berbagai RTKs, seperti Epidermal

Rahmi K,	Acta Pharmaceutica Indonesia 29, 2004; 150-152.	Growth Factor Receptor (EGFR), Platelet-Derived Growth Factor Receptor (PDGF), Fibroblast Growth Factor Receptor (FGR.) yang sangat berperan dalam mitosis sel.
Fariad A, Kurnia D, Fariad LS, Usman N, Miyazaki T, Kato H.	Anti cancer 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.	Penelitian sel kanker esofagus (TE-1) bahwa gallic acid (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 survival, jadi Phaleria macrocarpa tdk mengganggu siklus sel & tdk berbahaya bagi sel normal.17

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.	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> .51
M. Saifulhaq M	Pengaruh Pemberian Ekstrak Buah Mahkota Dewa ( <i>Phaleria papuana</i> ) Dosis bertingkat Terhadap Proliferasi Limfosit Lien Pada Mencit Balb/c. 2006	Terdapat perbedaan bermakna pada proliferasi limfosit antara kelompok kontrol dengan perlakuan 1 dan perlakuan 2
Therwa Hamza, john B. Barnett	Interleukin 12 a Key Immunoregulatory Cytokine in Infection Applications. Int J. Mol. Sci. 2010, 11: 789-806	Keluarga IL-12, antara lain IL-12, IL-23, IL-27 berperan menghasilkan IFN- $\gamma$ dan diferensiasi serta ekspansi sel T. IL-12 mempengaruhi Th1

		dan produksi IFN- $\gamma$ . IL-12 dapat memegang peran penting dalam pertahanan melawan infeksi bakteri dan virus, dan imunoterapi IL-12 penting pada terapi penyakit dimana respon Th1 diperlukan.
Federica Cavallo, Elena Quaglino, Loredana Cifaldi, Emma Di Carlo, Alessandra André, Paola Bernabei, Piero Musiani, Guido Forni, dan Raffaele A. Calogero	Interleukin IL-activated lymphocytes Influence Tumor Genetic Program. Cancer Reasearch. 15 April 2001. 61: 3518-3523	Ekspresi IFN- $\gamma$ yang tinggi dihasilkan oleh limfosit T yang teraktivasi IL-12. Meningkatkan ekspresi STAT1, IRF-1, LMP2, LMP7, NO, monokin, dan angiopontine 2, tapi menghambat ekspresi VEGF. Hal tersebut menunjukkan aktivitas antitumor IL-12
Yuzuru Inoue, Yoshifumi Nakayama,	Relationship between Interleukin-12-Expressing Cell and Antigen-Presenting	Menunjukkan adanya sel Dendritik, makrofag, dan sel yang dihasilkan IL-12 yang

<p>Noritaka Minagawa, Takefumi Katsuki, Nobuo Nagashima, Kentaro Matsumoto, Kazunori Shibao, Yosuke Tsurudome, Keiji Hirata, Naoki Nagata, dan Hideaki Itoh</p>	<p>Cell in Patients with Colorectal Cancer. <i>Anticancer Research</i>.2005.25: 3541-3546</p>	<p>matur di sekitar kanker kolorektal. Angka survival pasien kanker kolorektal direfleksikan oleh kepadatan sel Dendritik, makrofag, dan sel yang positif IL-12 tersebut.</p>
<p>Willard-Gallo Karen <i>et al.</i></p>	<p><i>Lymphocyte Infiltration: a Stratification Parameter In Breast Cancer? Breast International Group.</i></p>	<p>Meningkatkan skor imunitas secara klinis, kombinasi morfologi dan skor imunitas. Manipulasi sistem imun dapat sangat bermanfaat.</p>
<p>Gajewski Thomas F, Schreiber Hans, &amp; Yang-Xin Fu.</p>	<p><i>Innate and adaptive immune cells in the tumor microenvironment.</i> Nature Immunology</p>	<p>Karakteristik daerah sekitar tumor pada manusia menunjukkan secara fenotip dengan adanya limfosit T yang</p>

		<p>dipicu inflamasi. Penelitian ini mempunyai kandidat untuk mencari biomarker yang dapat dipakai sebagai hasil respon kemoterapi., dan menunjukkan perkembangan imunoterapi terkini. Tumor yang sudah diinfiltrasi limfosit T dapat memberikan respon terhadap mekanisme inhibisi pada sistem imun.</p>
--	--	--